JAHRGANG VII
1929

NEUE FOLGE
BAND I

LIEFERUNG 1
pag. 1—161

MIKROCHEMIE

Internationale Zeitschrift für deren Gesamtgebiet

Redigiert von

W. BÖTTGER (Leipzig), F. EMICH (Graz), F. PREGL (Graz),
H. EPPINGER (Freiburg i. Br.), R. STREBINGER (Wien), R. WASICKY (Wien)

Unter Mitwirkung von:

E. Abderhalden (Halle), H. V. Arny (New York), V. Asahina (Tokyo), H. K. Barrenscheen (Wien), G. Barger (Edinburgh), A. Benedetti-Pichler (Graz), R. Berg (Königsberg), G. Bertrand (Paris), W. Biltz (Hannover), J. C. Bock (Milwaukee), E. M. Chamot (Ithaca), O. Dafert (Wien), G. Denigès (Bordeaux), J. Dubský (Brünn), R. Eder (Zürich), R. Ehrenberg (Göttingen), G. Embden (Frankfurt a. M.), H. v. Euler (Stockholm), F. Feigl (Wien), B. Flaschenträger (Leipzig), E. Freund (Wien), O. Fürth (Wien), W. Geilmann (Hannover), W. C. de Graaf (Utrecht), H. G. Greenish (London), R. Grengg (Wien), F. L. Hahn (Frankfurt a. M.), F. Haurowitz (Prag), L. van Itallie (Leiden), S. Kakiuchi (Tokyo), J. Kendall (New York), J. Kisser (Wien), G. Klein (Wien), H. Kleinmann (Berlin), P. D. C. Kley (Delft), F. Knoop (Tübingen), L. Kofler (Innsbruck), I. M. Kolthoff (Minneapolis), H. Lieb (Graz), G. Lunde (Oslo), K. L. Maljaroff (Moskau), A. Martini (Rosario), A. Mayrhofer (Wien), L. B. Mendel (New Haven), A. Miolati (Padova), H. Molisch (Wien), L. Moser (Wien), J. M. Nelson (New York), W. Nonnenbruch (Prag), F. Paneth (Berlin), J. K. Parnas (Lemberg), V. Palzell (Wien), W. Pauli (Wien), E. Philippi (Innsbruck), L. Pincussen (Berlin), H. Přibram (Prag), K. Rasl (Leverkusen), P. Rona (Berlin), L. Rosenthaler (Bern), O. Ruff (Breslau), N. Schoorl (Utrecht), C. Schwarz (Wien), Y. Shibata (Tokyo), H. Siedentopf (Jena), E. v. Skramlik (Jena), D. D. Van Slyke (New York), K. Spiro (Basel), J. Stoklasa (Prag), J. Tillmans (Frankfurt a. M.), A. Tschirch (Bern), A. Viehoever (Philadelphia), C. Weygand (Leipzig), H. Winterstein (Breslau), O. Wintersteiner (Baltimore), F. Zaribnicky (Wien), R. Zeynek (Prag), R. Zsigmondy (Göttingen).

Inhalt:

Originalabhandlungen: pag.

F. Pregl und A. Soltys: Die Mikro-Azetylbestimmung 1
F. Feigl: Beiträge zur qualitativen Mikroanalyse (III) 10
H. Alber: Zum mikrochemischen Nachweis von Glyzerin, Aethylenglykol und d-Mannit 21
A. Martini: Neue Beiträge zur mikrochemischen Mineralanalyse 30
Z. Dische: Ueber Mikrobestimmung der Kohlehydrate in tierischen Organen und im Blute mit Hilfe charakteristischer Farbreaktionen 33
P. Haas: Bemerkungen zur Mikro-Methylimidbestimmung 69
F. Haurowitz: Ueber den Nachweis aktiver H-Atome mit Zinkäthyl 88
W. P. Malitzky u. M. T. Koslowsky: Ueber die mikrochemische Bestimmung von Blausäure mittels der Brunswik-Reaktion . . 94
R. Strebinger: Mikro-Barium-Kalzium-Trennung 100
A. C. Röttinger: Bericht über eine Halb-Mikromethode zur Kleberbestimmung in Mehlen 106
O. Werner: Ein neuer Apparat zur Gewinnung von Pflanzenaschen für Aschenbildbestimmungen 110
Sammelreferat: Der Phosphor. Von Feigl, Strebinger, Barrenscheen 116
Referate 142
Bücherschau 160

Mit 7 Abbildungen und 3 Tafeln.

Mikrochemie erscheint in zwangloser Folge — in Lieferungen von verschiedenem Umfange.

EMIL HAIM & Co.
WIEN UND LEIPZIG.

Emil Haim & Co., Wien, I., Maria-Theresien-Straße 10 zu adressieren.

Inhaltsverzeichnis.

A. Originalabhandlungen.

Alber H., Zum mikrochemischen Nachweis von Glyzerin, Aethylenglykol und d-Mannit 21

Dische Z., Ueber Mikrobestimmung der Kohlehydrate in tierischen Organen und im Blute mit Hilfe charakteristischer Farbreaktionen 33

Feigl F., Beiträge zur qualitativen Mikroanalyse (III) 10

Friedrich A., Ueber die quantitative mikroanalytische Bestimmung von Methoxyl- und Aethoxylgruppen 185

Friedrich A., Modifizierter Apparat zur quantitativen mikroanalytischen Bestimmung des Alkyls am Stickstoff 195

Haas P., Bemerkungen zur Mikro-Methylimidbestimmung 69

Haas P. und **Rappaport F.**, Die Verwendung von Cerdioxyd als Kontaktsubstanz in der Mikroelementaranalyse 327

Halla F., Bemerkungen zur Stickstoffbestimmung nach Dumas 202

Haurowitz F., Ueber den Nachweis aktiver H-Atome mit Zinkäthyl 88

Heller K., Mikrobestimmung von Schwefel, Phosphor und Arsen in organischen Substanzen nach der Methode von O. Gasparini 208

Heller K. und **P. Krumholz**, Beiträge zur systematischen Tüpfelanalyse (I) . 213

Kögel G., Ueber die neuesten Verbesserungen des Lumineszenzmikroskopes 305

Krüger D. und **Tschirch E.**, Der mikrochemische Nachweis der Essigsäure 318

Malitzky W. P. und **M. T. Koslowsky**, Ueber die mikrochemische Bestimmung von Blausäure mittels der Brunswik-Reaktion 94

Malitzky W. P. und **Tubakajew W. A.**, Ueber den mikrochemischen Nachweis von Natrium mittels Zinkuranylazetat 334

Martini A., Neue Beiträge zur mikrochemischen Mineralanalyse (II) 30

Martini A., Neue Beiträge zur mikrochemischen Mineralanalyse (III) 231

Martini A., Ueber das Vorkommen von Nickel in den Knochen 235

Martini A., Die Mikrokristalloskopie in den Gelen 236

Niethammer A., Schmelzpunktbestimmungen auf dem Mikroskoptische mit Hilfe eines Thermoelementes 223

Niethammer A., Azetaldehydbestimmungen mit Hilfe des Griebelschen Mikrobecherchens 227

Niethammer A., Ueber die Bedeutung und Verwendbarkeit mikrochemischer Reaktionen für Permeabilitätsstudien an Pflanzen 314

Pavelka F., Zwei Tüpfelreaktionen auf Blei 301

Pregl F. und **A. Soltys**, Die Mikro-Azetylbestimmung 1

Röttinger C. A., Bericht über eine Halbmikromethode zur Kleberbestimmung in Mehlen 106

Schilow E., Die pneumatische Apparatur der Mikroanalyse 163

Strebinger R., Mikro-Barium-Kalzium-Trennung 100

Werner O., Ein neuer Apparat zur Gewinnung von Pflanzenaschen für Aschenbildbestimmungen 110

B. Sammelreferate.

Phosphor.

1. **Feigl F.**, Qualitativer Teil 116
2. **Strebinger R.**, Quantitativer Teil 119
3. **Barrenscheen H. K.**, Die Mikromethoden der Phosphorbestimmung in biologischem Material 127

Das Jod.

Fellenberg Th. v., Der qualitative Nachweis und die quantitative Bestimmung von Jod in organischem und organisiertem Material auf mikrochemischem Wege 242
Steiner M., Der histochemische Nachweis des Jods 263
Lunde G., Die quantitative Bestimmung von Jod in anorganischem Material auf mikrochemischem Wege 336

C. Referate 142, 268, 367
D. Bücherschau 160, 297, 396
E. Kongreßbericht 397
F. Verschiedenes 299

SACHREGISTER.

MIKROCHEMIE, Jahrg. 1929, u. Sonderband: PREGL-FESTSCHRIFT.

Akrolein, Ueber den mikrochemischen Nachweis einiger Stoffe, die bei der Einwirkung bestimmter Reagenzien flüchtige Aldehyde oder Ketone liefern (*C. Griebel* und *F. Weiß*) 277

Aldehydmethonverbindungen, Zur Charakteristik und Analytik der — (*G. Klein* und *H. Linser*) . . . . . Pregl-Festschrift 204

Alkaloide, Mikrochemisches von den offizinellen Alkaloiden (*L. Rosenthaler*) 281

Alkyl, Modifizierter Apparat zur quantitativen mikroanalytischen Bestimmung des Alkys am Stickstoff (*A. Friedrich*) 195

Aluminium, Beiträge zum Nachweis des Aluminiums mittels Farbstoffreagenzien (*E. Eegriwe*) 381

Aluminium, Ein Bestätigungsnachweis für — und Zink (*R. Gemill, R. Brackett* und *C. R. McCrosky*) 382

Aminonaphtholsulfosäuren, Ueber die Brauchbarkeit der isomeren — für die kolorimetrische Phosphorbestimmung (*B. Vásárhelyi*) . Pregl-Festschrift 329

Aminosäurestickstoff in tierischen Geweben, Bestimmung von Harnstoff und — (The estimation of urea and amino acid nitrogen in animal tissues. *V. C. Kiech* und *J. M. Luck*) 294

Ammoniak, Ueber titrimetrische Bestimmung der in destilliertem Wasser vorhandenen kleinen Mengen von Kohlensäure und Ammoniak (*N. Bjerrum*) 143

Ammoniaksynthese, Ueber die — mit Katalysatoren, die aus komplexen Zyaniden des Eisens entstehen (*A. Mitlasch* und *E. Kuß*) 273

Aepfelsäure, Ueber den mikrochemischen Nachweis einiger Stoffe, die bei der Einwirkung bestimmter Reagenzien flüchtige Aldehyde oder Ketone liefern (*C. Griebel* und *F. Weiß*) 277

Arsen, Eine neue Methode zur Bestimmung kleinster Arsenmengen (*H. Kleinmann*) 144

Arsen, Mikrobestimmung von Schwefel, Phosphor und Arsen in organischen Substanzen nach der Methode von O. Gasparini (*K. Heller*) 208

Arsen, Ueber eine quantitative Mikrobestimmung des Arsens in Leichenteilen (*P. Szendrö* und *G. Fleischer*) . . . . . Pregl-Festschrift 323

Arsensäure, La cèruléo-molybdimétrie méthode de micro-dosage des ions phosphoriques et arséniques (*G. Denigès*) . . . . . Pregl-Festschrift 27

Arsensäure, Neue Methoden zur kolorimetrischen Bestimmung der Phosphor-, Arsen- und Kieselsäure (*Sch. Zinzadze*) 394

Arzneimittel, Zur Mikrochemie der — und Gifte (*A. Mayrhofer*) 160

Aschenbildbestimmungen, Ein neuer Apparat zur Gewinnung von Pflanzenaschen für — (*O. Werner*) 110

Aethoxylgruppen, Ueber die quantitative mikroanalytische Bestimmung von Methoxyl- und Aethoxylgruppen (*A. Friedrich*) 185

Aethylenglykol, Zum mikrochemischen Nachweis von Glyzerin, Aethylenglykol und d-Mannit (*H. Alber*) 21

Atropin, Mikrochemische Reaktionen auf Atropin (*M. Wagenaar*) 367

Azetaldehyd, Ueber den mikrochemischen Nachweis einiger Stoffe, die bei der Einwirkung bestimmter Reagenzien flüchtige Aldehyde oder Ketone liefern (*C. Griebel* und *F. Weiß*) 277

Azetaldehydbestimmungen mit Hilfe des Griebelschen Mikrobecherchens (*A. Niethammer*) 227

Azeton, Ueber den mikrochemischen Nachweis einiger Stoffe, die bei der Einwirkung bestimmter Reagenzien flüchtige Aldehyde oder Ketone liefern (*C. Griebel* und *F. Weiß*) 277

Azetyl, Die Mikro-Azetylbestimmung (*F. Pregl* und *A. Soltys*) 1

Azide, Ueber die analytische Auswertung einer durch CS_2 bewirkten Katalyse zur jodometrischen Bestimmung von Aziden und zum Nachweis von CS_2 (*F. Feigl* und *E. Chargoff*) 268

Bakterizidie, Mikrochemischer Beitrag zur — von Silber und Kupfer (*C. Egg* und *A. Jung*) . . . . . Pregl-Festschrift 46

Barium, Die Mikro-Barium-Kalzium-Trennung (*R. Strebinger*) 100

Barium, Natriumwolframat als mikrochemisches Reagens auf — (*G. Denigès*) 382

Bariumkation, Mikrotitration des Sulfatanions und des Bariumkations durch Zentrifugovolumetrie (*R. F. Le Guyon*) 144

Bariumsulfat, Die nephelometrische Bestimmung von — (*J. Křepelka* und *A. Kalina*) 394

Benzoesäure, Bestimmung kleiner Mengen von Benzoesäure und Zinnamylsäure mit einigen Bemerkungen über die kolorimetrische Bestimmung der Salizylsäure (*J. R. Nicholls*) 148

Berberin, Der mikrochemische Nachweis der Alkaloide in der Pflanze. V. Der Nachweis von Berberin (*G. Klein* und *H. Bartosch*) 152

Beryllium, Bestimmung kleiner Mengen von — in Gesteinen (*B. E. Dixon*) . 395

Beryllium, Mikrochemische Reaktionen des Berylliums (*V. Caglioti*) 142

Beryllium, Nachweis kleiner Mengen — (*H. Fischer*) 142

Blausäure, Ueber die mikrochemische Bestimmung von — mittels der Brunswik-Reaktion (*W. P. Malitzky* und *M. T. Koslowsky*) 94

Blei, Bestimmung kleinster Bleimengen durch Elektrolyse (*A. Seiser, A. Necke* und *H. Müller*) 270

Blei, Untersuchungen zur Realisierung eines Zerfalles des Bleiatoms (*A. Smits* und *W. A. Frederikse*) 273

Blei, Zwei Tüpfelreaktionen auf Blei (*F. Pavelka*) 301

Blutzucker, Nachtrag zur neuen Ferrizyanidmethode zur Bestimmung des Blutzuckers (*O. Folin*) 386

Blutzuckermethode, Eine neue — (A new blood sugar method. *O. Follin*) 290

Borsäure, Kongorot als Reagens auf — (*J. Stamm*) 383

Brom, Eine einfache mikroanalytische Trennung von Chlor und Brom (*L. Moser*) Pregl-Festschrift 293

Carotin in Blut und Geweben, Lipochromstudien. 11. Die quantitative Bestimmung von — (Studies on Lipochromes. 11. The quantitative estimation of Carotin in Blood and Tissues. *Ch. L. Connor*) 294

Carotinoiden, Bestimmung kleiner Mengen von — (*H. v. Euler, H. Hellström* und *M. Rydbom*) . . . . . Pregl-Festschrift 69

Cerdioxyd, Die Verwendung von — als Kontaktsubstanz in der Mikroelementaranalyse (*P. Haas* und *F. Rappaport*) 327

Cerebroside, Eine Mikromethode zur Bestimmung der — (*P. Kimmelstiel*) Pregl-Festschrift 165

Chemiker-Kalender 1929 160

Chemische Zeichensprache, Die — einst und jetzt. (*Victor Cordier*) 298

Chinidin, Mikrochemische Reaktionen auf — (*M. Wagenaar*) 375

Chinin, Mikrochemische Reaktionen auf — (*M. Wagenaar*) 374

Chlor, Eine einfache mikroanalytische Trennung von Chlor und Brom (*L. Moser*) Pregl-Festschrift 293

Chloralhydrat, Ueber den mikrochemischen Nachweis einiger Stoffe, die bei der Einwirkung bestimmter Reagenzien flüchtige Aldehyde oder Ketone liefern (*C. Griebel* und *F. Weiß*) 277

Chloride, Jodometrische Mikromethode zur Bestimmung der Chloride (*S. Prikladowizky* und *Apollonow*) 155

Chloride, A Micro-Method for the Estimation of Chlorides in Blood (*W. B. Rose* and *Ch. J. Stucky*) . . . . . Pregl-Festschrift 300

Chorion, Ueber die quantitative Bestimmung von Spuren von — in Präparaten (*A. Frost*) 144

Cinchonidin, Mikrochemische Reaktionen auf — (*M. Wagenaar*) 376

Cinchonin, Mikrochemische Reaktionen auf — (*M. Wagenaar*) 375

Cuproion, Ein empfindlicher Nachweis für das — (*O. Funakoshi*) 382

Dampfdichtebestimmung, Eine mikroanalytische Dampfdichtebestimmungsmethode (*J. B. Niederl*) 377

d-Mannit, Zum mikrochemischen Nachweis von Glyzerin, Aethylenglykol und d-Mannit (*H. Alber*) 21

Drogen, Chemische Charakterisierung der — (Chemical Characterization of Drugs. *L. Rosenthaler*) 154

Eisen, Kolorimetrische Eisen- und Haemoglobinbestimmung im Blut. (Colorimetric determination of iron and haemoglobin in blood. II. *San Yin Wong*) . 157

Eisen, Nachweis von Eisenspuren mittels Rhodanreaktion (*E. Kahane*) 143

Emissionsspektralanalyse I., Experimentelle Beiträge zur quantitativen — (*H. Thurnwald* und *G. F. Hüttig*) 395

Emissionsspektralanalyse II., Experimentelle Beiträge zur quantitativen — (*H. Thurnwald*) 395

Essigsäure, Der mikrochemische Nachweis der — (*D. Krüger* und *E. Tschirch*) 318

Forensische Praxis, Die Bedeutung der Mikrochemie in der forensischen Praxis. (*J. Buchtala*) . . . . . Pregl-Festschrift 20

Fruktose, Eine kolorimetrische Methode zur Bestimmung von — in Blut und Harn (*R. C. Corley*) 384

Fuselöl, Quantitative Bestimmung geringer Mengen von — (*E. Glimm*) . . . 152

Gallensäuren im Blut, Untersuchungen über den Gallenstoffwechsel. 1. Die Anwendung der Pettenkoferschen Reaktion zur quantitativen Bestimmung der Gallensäuren im Blut. (Studies in the metabolism of the bile. 1. A quantitative Pettenkofer test applicable to the determination of bile acids in the blood. *M. Aldrich* und *M. S. Bledsoe*) 295
Gelen, Die Mikrokristalloskopie in den Gelen (*A. Martini*) 236
Gesamtkreatinin, Eine Mikromethode zur Bestimmung des Gesamtkreatinins im Muskel (*S. Ochoa* und *J. G. Valdecasas*) 385
Gifte, Zur Mikrochemie der Arzneimittel und — (*A. Mayrhofer*) 160
Glykosiden, Mikrochemischer Nachweis und Lokalisations-Ermittlung von — (*L. Rosenthaler*) . . . . . Pregl-Festschrift 302
Glyzerin, Mikrobestimmung von — in Fetten mit der Methode von Zeisel und Fanto (*B. Flaschenträger*) . . . . . Pregl-Festschrift 89
Glyzerin, Ueber den mikrochemischen Nachweis einiger Stoffe, die bei der Einwirkung bestimmter Reagenzien flüchtige Aldehyde oder Ketone liefern (*C. Griebel* und *F. Weiß*) 277
Glyzerin, Zum mikrochemischen Nachweis von Glyzerin, Aethylenglykol und d-Mannit (*H. Alber*) 21
Goldpräparate, Die quantitative Verteilung des Goldes in den Organen gesunder und tuberkulöser Kaninchen nach Behandlung mit Goldpräparaten. 1. Mitteilung: Versuche an nichttuberkulösen Kaninchen (*B. Brahn* und *G. Weiler*) 292
Guanidinbasen, Bestimmung der — im Harn. (The determination of the Guanidine Bases in Urin. *C. F. Weber*) 290
H-Atome, Ueber den Nachweis aktiver — mit Zinkäthyl (*F. Haurowitz*) 88
Haemoglobin, Kolorimetrische Eisen- und Haemoglobinbestimmung im Blut. (Colorimetric determination of iron and haemoglobin in blood. II. *San Yin Wong*) 175
Harn, Bestimmung der Guanidinbasen im Harn. (The determination of the Guanidine Bases in Urin.) (*C. J. Weber*) 290
Harnstoff in tierischen Geweben, Bestimmung von Harnstoff und Aminosäurestickstoff in tierischen Geweben. (The estimation of urea and amino acid nitrogen in animal tissues.) (*V. C. Kiech* und *J. M. Luck*) 294
Helium, Heliumuntersuchungen. I. Ueber eine Methode zum Nachweis kleinster Heliummengen (*F. Paneth* und *K. Peters*) 271
Helium, Heliumuntersuchungen. II. Anwendung des empfindlichen Heliumnachweises auf Fragen der Elementumwandlung (*F. Paneth* und *K. Peters*) . 272
Helium, Heliumuntersuchungen. III. Ueber das Verhalten von Helium zu Glas und Palladium und über die Frage der Heliumverbindungen (*F. Paneth* und *K. Peters*) 272
Helium, Ueber den Heliumgehalt und das Alter von Meteoriten (*F. Paneth, H. Gehlen* und *P. L. Günther*) 273
Hefen, Untersuchungen über die proteolytische Wirkung von — (*F. Zaribnicky*) Pregl-Festschrift 338
Histochemie, Die Bedeutung der Methoden der botanischen Mikrotechnik für die pflanzliche Mikrochemie und Histochemie (*J. Kisser*) . Pregl-Festschrift 178
Homatropin, Mikrochemische Reaktionen auf — (*M. Wagenaar*) 370

Hydrastin, Der mikrochemische Nachweis der Alkaloide in der Pflanze. (VI.) Der Nachweis von Hydrastin. (*G. Klein* und *A. Schulbab*) 153
Hyoscyamin, Mikrochemische Reaktionen auf — (*M. Wagenaar*) 369
Illicium, Zur Mikrochemie von Illicium verum Hook und Illicium religiosum Sieb (*E. Siersch*) 155
Jod, Beiträge zur Mikrojodbestimmung (*G. Lunde, K. Closs* und *J. Böe*) Pregl-Festschrift 272
Jod, Bestimmung von kleinsten Mengen von Jod. (II.) Jod in Gemüsen (*J. F. McClendon* und *R. E. Remington*) 387
Jod, Die Bestimmung von Spuren — (The determination of traces of jodine. I. *J. F. McClendon*) 275
Jod, Ueber eine neue Methode zur Bestimmung von Jod (Halogen) in organischen Substanzen (*J. Schwaibold*) 377
Jod, Der histochemische Nachweis des Jods . . . (Sammelreferat *M. Steiner*) 263
Jod, Mikrogesamtjodbestimmung und Jodbestimmung in organischen Substanzen (*B. Groák*) 279
Jod, Der qualitative Nachweis und die quantitative Bestimmung von Jod in organischem und organisiertem Material auf mikrochemischem Wege (Sammelreferat *Th. v. Fellenberg*) 242
Jod, Die quantitative Bestimmung von Jod in anorganischem Material auf mikrochemischem Wege (Sammelreferat *G. Lunde*) 337
Jod, Ueber die quantitative mikroanalytische Bestimmung von Jod in organischen Substanzen (*Th. Leipert*) . . . . . Pregl-Festschrift 266
Jod, Einfache Schnellmethode zum quantitativen Nachweis von organisch gebundenem — in Körperflüssigkeiten (*P. Kuhn*) 151
Jod, Schwierigkeiten und deren Behebung bei der Jodbestimmung im Urin mittels Palladochlorids nach Verabfolgung jodhaltiger Präparate (*H. Bernhardt*) 367
Kadmium, Nachweis von Spuren — (*R. Meurice*) 143
Kadmium, Ueber eine Schnellmethode zur gravimetrischen Bestimmung des Quecksilbers und des Cadmiums (*G. Spacu* und *G. Suciu*) 395
Kalium, Bemerkung zur Kaliumbestimmung nach Kramer-Tisdall (A note on the Kramer-Tisdall potassium method *Morgulies. Sergius* und *Anne Perley*) 291
Kalzium, Nachweis kleiner Kalziummengen durch Mischungen von Gelatine und Lösungen von Oleaten. (The use of gelatine oleate mixtures for the demonstration of small amounts of calcium. *S. Amberg, J. Landsberg* and *F. Sawyer*) 276
Kantharidin, Zum Nachweis des Kantharidins (*R. Fischer*) 288
Karbonat, Mikrobestimmung von Karbonatkohlenstoff (*L. Kemmerer* und *L. T. Hallett*) 145
Kautschuk, Eine einfache optische Methode, um die Diffusion von Sauerstoff durch Kautschuk und einige andere Substanzen zu beweisen (*S. E. Hill*) 149
Kieselsäure, Bestimmung von — in Geweben. (The estimation of silica in tissues.) (*E. J. King*) 292
Kieselsäure, Neue Methoden zur kolorimetrischen Bestimmung der Phosphor-, Arsen- und Kieselsäure (*Sch. Zinzadze*) 394

Kieselsäure, Ueber eine Methode zur quantitativen Bestimmung kleiner Mengen Kieselsäure in Orthophosphorsäure (*Ph. Albrecht*) 269
Kleber, Bericht über eine Halb-Mikromethode zur Kleberbestimmung in Mehlen (*A. C. Röttinger*) 106
Koffein, Die Mikrobestimmung des Koffeins im Kaffee (*A. C. Röttinger*) Pregl-Festschrift 308
Koffein, Mikrochemische Reaktionen auf — (*M. Wagenaar*) 371
Kohlehydrate, Ueber Mikrobestimmung der — in tierischen Organen und im Blute mit Hilfe charakteristischer Farbreaktionen (*Z. Dische*) 33
Kohlenstoff und Wasserstoff, An Adaptation of Pregl's Microcombustion to a Semi-microcombustion Method for the Determination of Carbon and Hydrogen (*W. M. Lauer* and *F. J. Dobrovolny*) . . . . Pregl-Festschrift 243
Kohlenstoff und Wasserstoff nach Pregl, Notiz zur mikroanalytischen Methode der Bestimmung von — (*H. D. Keith Drew* und *Ch. R. Porter*) 149
Kohlenstoff und Wasserstoff, Eine elementare Zentigrammbestimmungsmethode. I. Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff mit automatischer Regelung der Verbrennung. II. Stickstoffbestimmung. (*B. Bobranski* und *E. Sucharda*) 278
Kohlenmonoxyd, Bestimmung von kleinen Mengen von — in Ethylen (*W. M. Welton* und *N. L. Drake*) 386
Kohlensäure, Ueber titrimetrische Bestimmung der in destilliertem Wasser vorhandenen kleinen Mengen von Kohlensäure und Ammoniak (*N. Bjerrum*) 143
Kongreßbericht 397
Kreatinin, Eine Mikromethode zur Bestimmung des Gesamtkreatinins im Muskel (*S. Ochoa* und *J. G. Valdecasas*) 385
Kreatinphosphorsäure, Zur Frage der — und seiner Bestimmungsmethode (*D. Ferdmann*) 293
Kupfer, Die Bestimmung von Kupfer in biologischem Material (*C. A. Elvehjem* und *C. W. Lindow*) 383
Kupfer, Mikrochemischer Beitrag zur Bakterizidie von Silber und Kupfer (*C. Egg* und *A. Jung*) . . . . . Pregl-Festschrift 46
Lactacidogen, Ueber die Spaltung des Lactacidogens bei der Muskelkontraktion (*G. Embden* und *H. Jost*) 157
Leitfähigkeitstitration, Die visuelle — und ihre praktischen Anwendungen (*G. Jander* und *O. Pfundt*) 297
Lichtbrechung in Kristallen, Eine interferometrische Methode zur Bestimmung der — (*P. Wulff*) 274
Lipoidphosphor, Kolorimetrische Bestimmung des Lipoidphosphors im Blut. (A colorimetric method for the determination of lipoidal phosphorus in blood. *S. L. Leiboft*) 293
Lumineszenzmikroskop, Ueber die neuesten Verbesserungen des Lumineszenz- (*G. Kögel*) 305
Magnesium, Beiträge zum Nachweis von — mittels Farbstoffreagenzien (*E. Eegriwe*) 380
Magnesium, Eine empfindliche Farbreaktion für — (*H. D. Barnes*) 383
Magnesium, Eine neue spezifische Reaktion auf — (*J. M. Kolthoff*) 269
Magnesium, Die Mikrobestimmung des Magnesiums mit o-Oxychinolin und seine Trennung vom Calcium (*R. Stebinger* und *W. Reif*) Pregl-Festschrift 319

Magnesium, Nachweis und Messung kleinster Magnesiummengen (*F. L. Hahn*) Pregl-Festschrift 127
Mannit, Zum mikrochemischen Nachweis von Glyzerin, Äthylenglykol und d-Mannit (*H. Alber*) 21
Materialprüfung, Mikrochemie und — (*F. Feigl*) 400
Metallographie, Chemische Mikroskopie. I. Kristallisationsversuche als Einführung in die Metallographie (*E. M. Chamot* und *C. W. Mason*) 149
Methoxylgruppen, Ueber die quantitative mikroanalytische Bestimmung von Methoxyl- und Äthoxylgruppen (*A. Friedrich*) 185
Methylimid, Bemerkungen zur Mikro-Methylimidbestimmung (*P. Haas*) . . . 69
Mikroanalyse, Beiträge zur qualitativen — (*F. Feigl*) 10
Mikroanalyse, Fortschritte der — (*A. Benedetti-Pichler*) 394
Mikrobürette, Eine neue — (*E. M. P. Widmark* und *S. L. Oerskov*) 293
Mikrobüretten, Zur Quecksilbermethode der Kalibrierung von — (*E. Schilow*) 144
Mikroelementaranalyse, Ueber — (*R. Goubau*) 278
Mikroelementaranalyse nach Pregl, Kurze Mitteilungen zur — (*F. Hernler*) Pregl-Festschrift 140
Mikroextraktionsmethode, Eine — (*J. B. Niederl*) 385
Mikrofiltration, Apparat für — (*A. T. Shohl*) 149
Mikrofraktionierkolonne, Eine — für analytische Zwecke (*C. M. Cooper* und *E. V. Fasce*) 149
Mikrohydrierungsapparatur (*F. Ebel, R. Brunner* und *P. Mangelli*) 280
Mikro-Kjeldahl-Ammoniakdestillationsapparat, Verbesserter — (*G. Kemmerer* und *L. T. Hallett*) 147
Mikro-Kjeldahl-Versuche (*B. Saiko-Pittner*) 148
Mikrokalorimeter, Ein — (*S. G. Lipsett, F. M. G. Johnson* und *O. Maaß*) . . 149
Mikrokolorimeter, Ein neues — und seine Anwendung (*H. Kleinmann*) . . . 150
Mikrokristalloskopie, Die — in den Gelen (*A. Martini*) 236
Mikromaßanalyse, Die pneumatische Apparatur der — (*E. Schilow*) 163
Mikromolekulargewichtsbestimmung, Zur ebullioskopischen (*A. Rieche* und *F. Querberitz*) 279
Mikropyrometer, Ein — (*H. Wartenberg* und *H. Moehl*) 144
Mikrorespirationsapparat zur gleichzeitigen Bestimmung von O_2 und CO_2 (*J. v. Ledebur*) . . . . . Pregl-Festschrift 253
Mikroschmelzpunktapparat, Ein bewährter — (*G. Klein*) . Pregl-Festschrift 192
Mikrostickstoffbestimmung nach Kjeldahl, Ein vereinfachtes Gerät zur — (*J. G. van der Saude*) 148
Mikroverbrennungsofen, Der elektrische — von Heraeus (*B. Flaschenträger*) 147
Mikroviskosimeter, Ein — vom Sayboldtyp (*M. Rogers* und *L. R. Adkins*) . 278
Mikrowaage, Beiträge zur Gewichtsanalyse mit der — von Kuhlmann (*A. Benedetti-Pichler*) . . . . . Pregl-Festschrift 6
Milchsäure, Ueber den mikrochemischen Nachweis der — (*J. Grüß*) 150
Milchsäure, Ueber den mikrochemischen Nachweis einiger Stoffe, die bei der Einwirkung bestimmter Reagenzien flüchtige Aldehyde oder Ketone liefern (*C. Griebel* und *F. Weiß*) 277
Milchsäurebestimmung in den Uterus- und Nabelgefäßen (*F. Wind* und *K. v. Oettingen*) 156

Milchsäure, Zur Methodik der Bestimmung kleinster Milchsäuremengen (*F. Lehnartz*) 158
Mineralanalyse, Neue Beiträge zur mikrochemischen — (*A. Martini*) 30
Mineralanalyse, Neue Beiträge zur mikrochemischen — (*A. Martini*) 231
Mineralischer Stoffe, Neue Reaktionen zur Prüfung — (*H. Leitmeier*) 430
Molekulargewicht, Eine Methode zur Bestimmung des Molekulargewichtes organischer Substanzen in geringen Mengen durch Gefrierpunkterniedrigung (*Bennosuke Kubota* und *Takeo Yamane*) 148
Molekulargewicht, Mikroapparat zur Bestimmung des Molekulargewichtes nach dem kryoskopischen Verfahren (*Kenji Iwamoto*) 279
Molekulargewicht, Modifikation von Rasts Mikromethoden zur Molekulargewichtsbestimmung (*J. H. C. Smith* und *W. G. Young*) 150
Molybdän, Eine gravimetrische Mikromethode zur Bestimmung von — (*J. B. Niederl* und *E. P. Silbert*) 385
Natrium, Die Anwendung des Uranylzinkazetats als Reagens zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Natrium (*J. M. Kolthoff*) . . . 394
Natrium, Bestimmung von Natrium in kleinen Mengen von Serum oder Plasma mittels der jodometrischen Methode. (On the Determination of the Sodium content of small amounts of serum or heparinized plasma by the jodometric method. *M. D. Rourke*) 295
Natrium, Die Prüfung auf — mit Kaliumantimonat (*W. Böttger*) Pregl-Festschrift 14
Natrium, Ein neues qualitatives Reagens auf — (*E. R. Caley*) 382
Natrium, Ueber den mikrochemischen Nachweis von — mittels Zinkuranylazetat (*W. P. Malitzky* und *W. A. Tubakajew*) 334
Nickel, Ueber das Vorkommen von — in den Knochen (*A. Martini*) 235
Nitrometer, Ueber ein schlauchloses — für halbmikrochemische Arbeitsweise (*E. Berl, K. Hofmann* und *R. Bemmann*) 379
Nitrozellulose, Mikromethode zur Bestimmung des Stickstoffgehaltes von Nitrozellulose. Fraktionierung von Nitrozellulose durch Diffusion (*D. Krüger*) 146
OH-Gruppen, Verbesserte Darstellung des Grignard-Reagens zur Mikrobestimmung von — nach Tschugaeff und Zerewitinoff (*B. Flaschenträger*) Pregl-Festschrift 87
Organisch-chemisches Praktikum (*L. Orthner* und *L. Reichel*) 396
Organische Säuren im Blut, Eine Mikromethode zur Bestimmung von ätherlöslichen organischen Säuren im Blut (*L. Oerskov Sören*) 291
Permanganat, Eine mikrochemische Permanganattitration mit Erioglancin A und Eriogrün B als Indikator (*J. Knop* und *O. Kubelková*) 389
Permeabilitätsstudien, Ueber die Bedeutung und Verwendbarkeit mikrochemischer Reaktionen für — an Pflanzen 314
Pflanze, Beiträge zur Mikrochemie der Pflanze, Nr. 17 (*H. Molisch*) 280
Pflanzenaschen, Ein neuer Apparat zur Gewinnung von — für Aschenbildbestimmungen (*O. Werner*) 110
Pharmakognostische Notizen (*L. Rosenthaler*) 289
Pharmazeutische Analyse, Ueber Anwendungsmöglichkeiten verschiedener qualitativer Mikromethoden für die pharmazeutische (toxikologische) Analyse (*L. Fuchs* und *A. Mayrhofer*) . . . . . Pregl-Festschrift 106

Phosphor, Kolorimetrische Bestimmung des Lipoidphosphors im Blut. (The colorimetric determination of lipoid phosphorus in blood. *A. R. Harnes*) 155
Phosphor, Mikrobestimmung von Schwefel, Phosphor und Arsen in organischen Substanzen nach der Methode von O. Gasparini (*K. Heller*) 208
Phosphor, Die Mikromethoden der Phosphorbestimmung in biologischem Material (Sammelreferat *H. K. Barrenscheen*) 127
Phosphor, Qualitativer Teil (Sammelreferat *F. Feigl*) 116
Phosphor, Quantitativer Teil (Sammelreferat *R. Strebinger*) 119
Phosphorsäure, La céruléo-molybdimétrie méthode de micro-dosage des ions phosphoriques et arséniques (*G. Denigès*) . . . . . Pregl-Festschrift 27
Phosphorsäure, Neue Methoden zur kolorimetrischen Bestimmung der Phosphor-, Arsen- und Kieselsäure (*Sch. Zinzadze*) 394
Phytomikrochemie, Angewandte — (Applied Phytomicrochemistry. *L. Rosenthaler*) 154
Physostigmin, Mikrochemische Reaktionen auf — (*M. Wagenaar*) 376
Piperin, Mikrochemische Reaktionen auf — (*M. Wagenaar*) 377
Pipette für Mikroanalysen, Eine — (*A. T. Shohl*) 149
Pneumatische Apparatur, Die — der Mikromaßanalyse (*E. Schilow*) 163
Phorphyrie, Untersuchungen über — mit besonderer Berücksichtigung der Porphyria congenita (*Borst* und *Königsdorfer jun.*) 297
Potentiometrische Mikrotitrationen (*F. L. Hahn*) 395
Qualitative Analyse, Ueber eine Schnellmethode der — (Sur une méthode d'Analyse qualitative rapide.) (*G. Gutzeit*) 390
Qualitativen Mikroanalyse, Beiträge zur — (*F. Feigl*) 10
Quantitative anorganische Mikroanalyse (*R. Strebinger*) 427
Quecksilber, Beitrag zur Mikroanalyse organischer Quecksilberverbindungen (*F. Hernler*) . . . . . Pregl-Festschrift 154
Quecksilber, Ueber die Bestimmung kleinster Quecksilbermengen (*R. Thilenius* und *R. Winzer*) 269
Quecksilber, Ueber die Bestimmung kleinster Quecksilbermengen (*A. Stock* und *W. Zimmermann*) 367
Quecksilber, Ueber eine Schnellmethode zur gravimetrischen Bestimmung des Quecksilbers und des Cadmiums (*G. Spacu* und *G. Suciu*) 395
Radioaktive Methoden der Mikrochemie (*F. Paneth*) 417
Radiometrischen Mikroanalyse, Zur — (*R. Ehrenberg*) . . . Pregl-Festschrift 61
Ricinin, Der mikrochemische Nachweis der Alkaloide VIII. Der Nachweis von Ricinin (*G. Klein* und *H. Bartosch*) 388
Roheisen, Mikro-Elementaranalyse von — (*H. Cowan*) 144
Rückenmarksflüssigkeit (liquor cerebrospinalis), Bemerkungen zur Bestimmung von Urotropin in der — (*E. Bertel*) 294
Sabadilla, Der mikrochemische Nachweis der Alkaloide VII. Der mikrochemische Nachweis der Sabadilla-Alkaloide (*G. Klein, E. Herndlhofer* und *O. Tröthandl*) 387
Salben, Ueber die Charakterisierung der offizinellen— (*L. Rosenthaler*) . . . 286
Salizylsäure, Bestimmung kleiner Mengen von Benzoesäure und Zinnamylsäure mit einigen Bemerkungen über die kolorimetrische Bestimmung der Salizylsäure (*J. R. Nicholls*) 148

Säuren, Beiträge zur qualitativen Mikroanalyse von — (*F. Feigl* und *P. Krumholz*) . . . . . Pregl-Festschrift 77

Säuren, Eine Mikromethode zur Bestimmung von ätherlöslichen organischen Säuren im Blut (*S. L. Oerskov*) 291

Schmelzpunktbestimmung, s. a. u. Mikroschmelzpunktapparat

Schmelzpunktbestimmungen auf dem Mikroskoptische mit Hilfe eines Thermoelementes (*A. Niethammer*) 223

Schnellmethode, Ueber eine — der qualitativen Analyse. (Sur une méthode d'Analyse qualitative rapide. *G. Gutzeit*) 390

Schwefel, Eine mikrochemische Farbreaktion auf Schwefel (*E. Grünsteidl*) . . 383

Schwefel, Mikrobestimmung von Schwefel, Phosphor und Arsen in organischen Substanzen nach der Methode von O. Gasparini (*K. Heller*) 208

Schwefel, Ueber die quantitative mikroanalytische Bestimmung des Schwefels in organischen Substanzen auf maßanalytischem Wege (*A. Friedrich*) Pregl-Festschrift 91

Schwefelige Säure, Ein Apparat zur Mikrobestimmung der schwefeligen Säure in der Luft (*A. C. Röttinger*) . . . . . Pregl-Festschrift 313

Schwefelkohlenstoff, Ueber die analytische Auswertung einer durch CS_2 bewirkten Kalalyse zur jodometrischen Bestimmung von Aziden und zum Nachweis von CS_2 (*F. Feigl* und *E. Chargoff*) 268

Schwefelseigerungen, Die richtige Erkennung von — (*M. Nießner*) 441

Schwermetalle, Ueber den Nachweis von Schwermetallen mit „Dithizon" (Diphenylthiokarbazon.) (*H. Fischer*) 380

Scopolamin, Mikrochemische Reaktionen auf — (*M. Wagenaar*) 370

Silber, Eine Methode zur quantitativen mikrochemischen Bestimmung des Silbers in Blut und Organen (*L. Pincussen* und *W. Roman*) Pregl-Festschrift 296

Silber, Mikrochemischer Beitrag zur Bakterizidie von Silber und Kupfer (*C. Egg* und *A. Jung*) . . . . . Pregl-Festschrift 46

Spektralanalyse, Experimentelle Beiträge zur quantitativen Emissionsspektralanalyse I. (*H. Thurnwald* und *G. F. Hüttig*) 395

Spektralanalyse, Visual Lines for Spectrum Analysis (*D. M. Smith*) 298

Spektrophotometrie, Ueber die Anwendung der photoelektrischen — auf die Mikroanalyse (*H. v. Halban* und *E. Zimpelmann*) 274

Spektroskopische Methoden der Mikrochemie (*F. Paneth*) 421

Spezifisches Gewicht, Eine Methode zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes kleiner Organstücke (*M. de Crinis*) . . . . . Pregl-Festschrift 25

Spezifisches Gewicht, Schnell- und Mikrobestimmung des spezifischen Gewichtes (*E. H. Riesenfeld*) 279

Stickstoff, An Adaption of Pregl's Microcombustion to a Semi-microcombustion Method for the Determination of Nitrogen (*W. M. Lauer* and *C. J. Sunde*) . . . . . Pregl-Festschrift 235

Stickstoff, Bemerkungen zur Stickstoffbestimmung nach Dumas (*F. Halla*) . 202

Stickstoff, Einfache Apparatur zur mikroanalytischen Bestimmung von durch Lauge abspaltbarem — (*H. Leopold*) 146

Stickstoff, Eine verbesserte Mikro-Dumas-Bestimmung des Stickstoffes (*Shintaro Ogawa*) 145
Stickstoff, Ein vereinfachtes Gerät zur Mikrostickstoffbestimmung nach Kjeldahl (*J. G. van der Saude*) 148
Strontium, Ueber die quantitative Mikro-Strontium-Bestimmung (*L. v. Zombory*) 379
Sulfatanion, Mikrotitration des Sulfatanions und des Bariumkations durch Zentrifugovolumetrie (*R. F. Le Guyon*) 144
Sulfide, Ueber einen neuen empfindlichen Nachweis von Sulfiden und Thiosulfaten (*F. Feigl*) 268
Thallium, Zum Nachweis von — (*A. J. Steenhauer*) . . . . Pregl-Festschrift 315
Theobromin, Reaktionen auf — (*M. Wagenaar*) 372
Theophyllin, Beiträge zur Mikrochemie des — (*M. Wagenaar*) 373
Thiosulfate, Ueber einen neuen empfindlichen Nachweis von Sulfiden und Thiosulfaten (*F. Feigl*) 268
Trennung von Chlor und Brom, Eine einfache mikroanalytische — (*L. Moser*) Pregl-Festschrift 293
Tryptophan im Blut, Bestimmung von freiem — (A colorimetric method for the determination of free Tryptophane in blood.) (*C. A. Cary*) 290
Tüpfelanalyse, Beiträge zur systematischen — (*K. Heller* und *P. Krumholz*) . 213
Uran, Ueber eine empfindliche Methode des Urannachweises und die Lokalisation des Urans im tierischen Organismus bei der Uranvergiftung (*H. Eitel*) 151
Uran, Der Nachweis von — durch ein Photolumineszenz-Verfahren (*J. Papish* und *L. E. Hoag*) 382
Urotropin, Ueber die Anwendung des Urotropins als mikrochemisches Reagens (*J. M. Korenmann*) 286
Vanadin, Nachweis kleiner Mengen — (*A. Fölsner*) 269
Vanadin, Nachweis kleiner Mengen — (*Kropf*) 379
Wasserstoff, Ueber Schwingungsentladungen im — (*Z. Bay* und *W. Steiner*) . 275
Wasserstoffaktivierung, Zur Frage der — in der stillen elektrischen Entladung (*G. M. Schwab* und *F. Seuferling*) 274
Wismut, Eine neue Mikro-Wismutbestimmung auf gewichtsanalytischem Wege (*R. Strebinger* und *W. Zins*) 144
Wismut, Die mikrotitrimetrische Bestimmung des Wismuts (*J. Straub*) 271
Wismut, Nachweis von Wismutspuren durch die induzierte Reduktion von Blei (*F. Feigl* und *P. Krumholz*) 381
Wismut, Zum Nachweis kleinster Wismutmengen (*H. K. Barrenscheen* und *M. Frey*) . . . . . Pregl-Festschrift 1
Xylole, Mikroidentifizierung von Isomeren und Homologen in ihren Gemischen. I. Die drei isomeren Xylole (*Masao Migita*) 280
Zeichensprache, Die chemische — einst und jetzt (*Victor Cordier*) 298
Zellulose, Mikromethode zur Bestimmung der Kupferzahl von — (*T. F. Heyes*) 278
Zentrifugenröhrchen mit abnehmbarer Kappe (*A. Friedrich*) . Pregl-Festschrift 103
Zink, Ein Bestätigungsnachweis für Aluminium und — (*R. Gemmill, R. Brackett* und *C. R. McCrosky*) 382

Zinnamylsäure, Bestimmung kleiner Mengen von Benzoesäure und Zinnamylsäure mit einigen Bemerkungen über die kolorimetrische Bestimmung der Salizylsäure (*J. R. Nicholls*) 148

Zitronensäure, Mikrochemische Reaktion auf — (*M. Wagenaar*) 148

Zitronensäure, Ueber den mikrochemischen Nachweis einiger Stoffe, die bei der Einwirkung bestimmter Reagenzien flüchtige Aldehyde oder Ketone liefern (*C. Griebel* und *F. Weiß*) 277

Zucker, Eine Zeitmethode zur Bestimmung reduzierender Zucker und ihre Anwendung in der Blut- und Harnanalyse (*J. A. Hawkins* und *D. D. van Slyke*) 385

Originalabhandlungen.

Die Mikro-Azetylbestimmung.

Von Fritz Pregl und Arnulf Soltys.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität, Graz.)

Schon in seiner Innsbrucker Zeit ist es dem einen von uns klar gewesen, daß für die Aufklärung einer organischen Substanz mit Hilfe der Mikroanalyse auch ein lebhaftes Bedürfnis nach einer Mikro-Azetylbestimmung besteht. Daher fehlte es seit damals nicht an periodenweise angestellten Versuchen, ein solches Verfahren tatsächlich auszuarbeiten. Die ersten Versuche wurden im Vereine mit Hans Lieb ausgeführt; sie beruhten im wesentlichen darauf, das vermeintlich allgemein anwendbare Wenzelsche Verfahren etwas verändert in Anwendung zu bringen. Leider befriedigten die damaligen Ergebnisse nicht. Viel später wurde mit Dr. Soltys auf diesem Gebiete die sichere Feststellung gemacht, daß die Destillation durch Glas- und Quarzkühler bei Verwendung von Phenolphthalein als Indikator unbedingt falsche Werte liefert und daß nur ein Silberkühler an das Destillat keine störenden Beimengungen abgibt. Auch wurde schon damals erkannt, daß die Titration der kurz zum Sieden erhitzten Flüssigkeiten am besten in Quarzgefäßen erfolgt.

Im Herbst 1924 wurden diese Versuche systematisch im Vereine mit Dr. Milka Baltadschiewa neuerlich in Angriff genommen, anfänglich wieder nach dem Prinzip des Wenzelschen Verfahrens. Zur Verseifung und Destillation diente ein Kölbchen mit doppeltem Hals, wie es auch bei dem später zu beschreibenden Verfahren beibehalten wurde. In den einen Hals trat damals Wasserstoff ein, der andere war mit einem kleinen Tropftrichter mit Hahn verschlossen. Einen zweiten, mit Glasperlen gefüllten Kolben, wie ihn Wenzel benützt, glaubten wir damals dadurch vermeiden zu können, daß wir nach Beschickung des Verseifungskölbchens mit der zu zersetzenden Substanz (zirka 3 mg) und mit 0,3 ccm Schwefelsäure (2 : 1) dieses mit reingewaschenen Glasperlen bis in seinen Hals hinein vollfüllten. Das aufsteigende Destillationsrohr war mit dem Silberkühler mittels eines reinen Kautschukschlauchstückes in Verbindung und ein eingeführter dicker Silberdraht verhinderte die Kondensation in den aufsteigenden Röhren.

Die Bestimmung erfolgte in der Art, daß wir zuerst die Zersetzung der Substanz durch eine Viertelstunde bei der Temperatur des in einem

Becherglase siedenden Wassers, in welches das Zersetzungskölbchen völlig eintauchte, durchführten; hierauf wurde Wenzelsche Phosphatlösung durch den Tropftrichter im Vakuum einfließen lassen und die gesamte Flüssigkeit in die Vorlage überdestilliert, die schon zuvor mit 5 ccm n/100 NaOH beschickt war. Nach neuerlichem Einlassen von 1 ccm Wasser durch den Tropftrichter in das Innere des Zersetzungskölbchens konnten die letzten Reste flüchtiger Bestandteile durch Vakuumdestillation in die Vorlage übergeführt werden. Dabei schien es, daß der Kühler über der vorgelegten Lauge 1 bis 1½ cm enden durfte, ohne mangelhafte Absorption befürchten zu müssen, eine Annahme, die sich später als völlig irrig erwiesen hat. Nach Wiederherstellung des Atmosphärendruckes vom Tropftrichter aus, Abnehmen der Pumpe und Abspülen des Silberkühlers wurde die Vorlage abgenommen, der Inhalt in einen Meßkolben von 50 ccm übergeführt und bis zur Marke aufgefüllt. In 25 ccm wurde dann mit n/100 Jodlösung das mitgegangene Schwefeldioxyd bestimmt und in der restlichen Hälfte unter Verwendung von Phenolphthalein als Indikator die Gesamtazidität festgestellt.

Auf diese Weise konnten zwar von einer ganzen Reihe von Substanzen scheinbar brauchbare Azetylwerte gewonnen werden. Leider zeigte es sich aber, daß gerade im Bereiche der Kohlehydrate, und zwar der Zuckerarten, und auch im Gebiete einiger anderer Körperklassen dieses Verfahren völlig unrichtige, und zwar meist um mehrere Prozente fälschlich zu hohe Resultate liefert. Da die Ursache dafür wohl in dem Umstande zu suchen ist, daß bei der Verseifung mit allerdings etwas verdünnter Schwefelsäure, namentlich aus den Zuckerarten, auch andere flüchtige Säuren entstehen, schlossen sich daran Versuche, die Verseifung mit der zuerst von Freudenberg[1] für diesen Zweck angegebenen und verwendeten p-Toluolsulfosäure an. Für eine Einwage von rund 3 mg reichen 0,25 g p-Toluolsulfosäure völlig aus. Wir haben es vorgezogen, uns p-Toluolsulfosäure selbst darzustellen und bis zur Erreichung des Literaturschmelzpunktes zu reinigen, weil manche im Handel befindliche Präparate nicht voll entsprochen haben. Im übrigen mußte aber, so wie schon früher beschrieben, auch in diesem Falle der Inhalt der Vorlage quantitativ in ein 50-ccm-Kölbchen umgefüllt und die eine Hälfte mit Jodlösung zur Bestimmung des Schwefeldioxyds und die andere Hälfte mit Phenolphthalein und n/100 Salzsäure zur Bestimmung des gesamten Säuregehaltes zurücktitriert werden. Schon bei diesen Versuchen zeigte sich ganz deutlich die Ueberlegenheit der Toluolsulfosäure

[1] Zeitschr. f. angew. Chemie, Jahrg. 38, Nr. 13, 26. März 1925, S. 280. Hier finden sich auch weitere Literaturnachweise.

gegenüber der Schwefelsäure, denn gerade auf dem Gebiete der Zuckerarten konnten nun meist richtige Werte erhalten werden. Die Schwierigkeiten, die sich dabei einstellten, bezogen wir damals noch lediglich auf die manchmal plötzlich auftretenden Glasfehler.

Der Umstand, daß auch bei der Verseifung mit Toluolsulfosäure Schwefeldioxyd abgespalten wird und man daher genötigt ist, die Menge desselben, die allerdings weit geringer ist als wie bei der Verseifung mit Schwefelsäure, zu bestimmen, nötigte bisher noch immer, den Inhalt der Vorlage in den Meßkolben überzuführen und in zwei gleiche Hälften zu teilen, was weder bequem, noch der Genauigkeit zuträglich ist. Es ist daher als ein wesentlicher Fortschritt die Erkenntnis zu werten, daß man das gebildete Schwefeldioxyd durch Zwischenschaltung eines mit Glasperlen gefüllten U-Rohres, die mit einer konzentrierten Lösung von primärem Kaliumphosphat nach S ö r e n s e n benetzt sind, völlig zurückhalten kann. Allerdings ist es dann notwendig, zu verhindern, daß primäres Kaliumphosphat in das Destillat, sei es durch Verspritzen oder Verstäuben gelangt; daher enthält dieses U-Rohr, wie aus der folgenden Beschreibung und Zeichnung hervorgeht, in dem dem Silberkühler zugekehrten Ende eine 3 ccm lange Schicht festgestopfter Glaswolle, die letzteres verhindert.

Die zweifellos noch bestandene Unsicherheit veranlaßten den einen von uns (S o l t y s) die Bedingungen der restlosen Ueberführung bekannter Mengen von Essigsäure in die vorgelegte n/100 Natronlauge zu studieren. Dazu wurde stets 1 ccm n/20 Essigsäure aus dem Destillationskölbchen nach Passieren des U-Rohres in die Vorlage überzutreiben gesucht und es ergab sich dabei folgendes:

1. Das Ende des Kühlrohres muß die Oberfläche der vorgelegten n/100 Lauge zum mindesten berühren; ein zu tiefes Eintauchen ist nicht ratsam, weil sonst durch zu starkes Spritzen vielleicht doch Verluste eintreten könnten.

2. Bei Verwendung von Vorlagen aus Jenaer Hartglas erhielt man auch bei sorgfältigster Ausdämpfung wegen der langen Berührungsdauer mit der Flüssigkeit und ihren Dämpfen stets mehr oder weniger große Blindwerte. Nur eine Vorlage aus geblasenem Quarzglas entspricht allen Anforderungen.

3. Vor der Endtitration muß nach Zufügen von einem Ueberschuß von 1 ccm n/100 Salzsäure durch anhaltendes Kochen auch der letzte Rest von Kohlensäure entfernt werden. Eine Kochdauer von 20 Sekunden hat sich als hinreichend erwiesen. Bei weit längerem Kochen bestünde die Gefahr eines Verlustes an Essigsäure.

Aus diesen Feststellungen ergibt sich, daß die früher geschilderten, leidlich befriedigenden Ergebnisse nur darauf zurückzuführen waren, daß einerseits der Verlust an Essigsäure infolge Nichteintauchens des Kühlers und anderseits die nicht völlige Entfernung der Kohlensäure trotz Reinigung des Luft- oder Wasserstoffstromes durch Kalilauge und Natronkalk sich kompensiert haben.

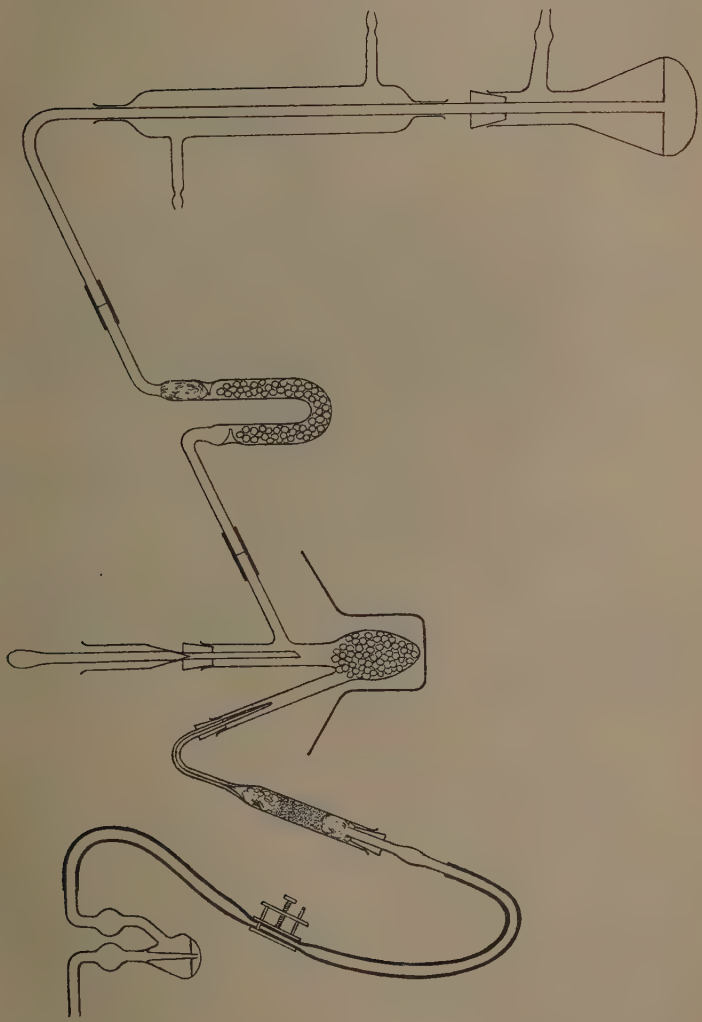
Damit war das letzte Hindernis aus dem Wege geräumt und waren die elementaren Bedingungen für eine Azetylbestimmungsmethode gegeben, die in bezug auf ihre Anwendbarkeit die Grenzen der ursprünglich für allgemein anwendbar gehaltenen Wenzelschen Azetylbestimmung weit übertrifft. Sie liefert Werte, die von den theoretisch berechneten nicht mehr als $\pm 0{,}5\%$ abweichen und bei einiger Uebung kommt man dem theoretischen Werte noch wesentlich näher.

Im nachstehenden sollen nun die erforderlichen Apparate und die Ausführung einer Analyse geschildert werden, an die sich die Mitteilung einiger Beleganalysen anschließen soll.

Das Destillierkölbchen mit seinem Zubehör.

(Natronkalkrohr, Blasenzähler und Innenschlifftrichter.)

An den Hals von 8 cm Länge, 12 mm äußerem und 10 mm innerem Durchmesser folgt eine olivenförmige Erweiterung von 5 cm Länge, die an ihrer weitesten Stelle 35 mm im Durchmesser mißt. An diese ist unter einem Winkel von etwa 20° zum Hals der Einleitungsansatz von 7 mm äußerem Durchmesser und einer Länge von 9 cm so angesetzt, daß deren beide nicht aufgebörtelte, sondern nur rund abgelaufenen Mündungen in einer Höhe stehen. Auf der anderen Seite trägt der Hals des Kölbchens einen unter etwa 25° gegen die Horizontale aufsteigenden Ansatz von 5 mm Durchmesser und 8 cm Länge. Mehrfache üble Erfahrungen haben gezeigt, daß Destillierkölbchen aus weichem Thüringerglas nur eine sehr kurze Lebensdauer besitzen. Aus diesem Grunde werden von nun ab sowohl die Destillierkölbchen wie auch das später zu beschreibende U-Rohr nur mehr aus Jenaer Geräteglas hergestellt und seitdem überdauern diese Stücke eine stattliche Anzahl von Bestimmungen. Zum Abschluß des Einleitungsansatzes dient das Natronkalkrohr samt Blasenzähler. An ein 8 cm langes Rohr von 11 mm äußerem Durchmesser ist eine Thermometerkapillare von 10 cm Länge angesetzt und an ihrem freien Ende fein konisch verjüngt, so daß ihr konisch auslaufendes Ende höchstens einen Durchmesser von $1^1/_2$ mm und das Lumen an dieser



Mikrochemie 1929, 1: F. Pregl und A. Soltys, Die Mikro-Azetylbestimmung.

Stelle höchstens 1/3 mm Durchmesser besitzt. Dieses Rohr wird mit Natronkalk gefüllt und mittels Schlauchstückes an den Einleitungsansatz des Destillierkolbens hakenartig angeschlossen. Das weite Ende des Natronkalkrohres verbindet man mittels eines in einem Kautschukpfropfen steckenden Glasröhrchens und einem darüber gestülpten Kautschukschlauch, der einen Schraubenquetschhahn trägt, mit dem Blasenzähler, der es gestattet, im Verlaufe der Vakuumdestillation die Stärke des Gasstromes zu beurteilen und mit dem Quetschhahn zu regeln. In den meisten Fällen läßt man nur Zimmerluft durchstreichen, es ist aber der Fall denkbar, daß bei besonders empfindlichen Körpern eine Wasserstoffatmosphäre vorzuziehen ist, die ohne weiteres durch Verbindung des Blasenzählers mit einem Wasserstoffentwicklungsapparat erzielt wird. Da sowohl bei der Verseifung wie bei der Destillation das Kölbchen in siedendem Wasser erhitzt werden muß und bei den anfänglichen Versuchen diese Erhitzung in Bechergläsern stets zu Mißerfolgen und auch Beschädigungen des Kölbchens geführt hat, nehmen wir von jetzt ab die Erhitzung in einem hutartig geformten Kupfergefäß vor, welches in jeder Richtung befriedigt.

Der zum Verschluß des Kolbenhalses dienende Innenschlifftrichter besteht aus einem 4½ cm langen Rohr von 12 mm Durchmesser, welches konisch verjüngt in ein Röhrchen von 4 mm Durchmesser und 7 cm Länge übergeht. An dem konischen Uebergang von dem weiten Teil der Röhre in deren engeren ist ein Glasstab von 8 ccm Länge als Verschlußstück konisch eingeschliffen. Diese Form des Verschlusses ist einem quergestellten Hahn, wie sie bei Tropftrichtern üblich ist, ob der Entbehrlichkeit jeder Hahnspeise und infolge der absoluten Dichtigkeit gegenüber dem Vakuum unbedingt vorzuziehen.

Das U-Rohr.

Ein U-Rohr mit ungleichen Schenkeln, von denen der eine 8, der andere 11 cm Länge besitzt, geht in Ansatzröhren von 5 bis 6 mm Durchmesser an seinen beiden Enden über. Es enthält in seinen beiden weiten Schenkeln bis zu einer Höhe von 6 cm Glasperlen. Von diesen, durch eine Einbuchtung getrennt, enthält der längere Schenkel darüber noch festgestopfte Glaswolle und am kürzeren Schenkel ist durch eine ebensolche Einbuchtung verhindert, daß eine vorfallende Glaskugel den Eintritt in das Ansatzröhrchen verschließe. Die beiden Ansatzröhrchen sind etwa 6 cm lang und derart gebogen, daß das zum kürzeren Schenkel gehörende und das vom längeren Schenkel abführende unter einem Winkel von etwa 25° gegen die Horizontale aufsteigen.

Der Silberkühler.

Von einem Silberrohr von 5½ bis 6 mm äußerem Durchmesser und einer Länge von 65 cm ist ein 10 cm langes Stück derart hakenförmig abgebogen, daß der lange vertikale Schenkel mit dem kurzen, abgebogenen Teil einen Winkel von etwa 65° einschließt. Von der Abbiegung an, nach unten gerechnet, wird ein 20 cm langes Stück des Silberrohres von einem gewöhnlichen gläsernen Kühlmantel umschlossen, der daran mit zwei Kautschukpfropfen befestigt ist. Der unter dem Kühlmantel vorragende Teil des Silberrohres soll mindestens noch 15 bis 20 cm betragen.

Das Quarzkölbchen.

Zum Vorlegen der Natronlauge und Auffangen des Destillates sowie für die Durchführung der Endtitration eignet sich nur eine Vorlage aus geschmolzenem Quarz. Im wesentlichen hat sie die Form eines Erlenmaier-Kölbchens von 50 ccm Fassungsraum, dessen Hals eine Länge von 5½ cm besitzt und an der Mündung nur rundgeschmolzen erscheint. In halber Höhe des Halses befindet sich ein 5 cm langer seitlicher Ansatz zum Anfügen des Pumpenschlauches. Der Boden des Kölbchens ist nicht eben, sondern schwach gerundet[2].

Die Ausführung der Azetylbestimmung.

Zur erfolgreichen Durchführung der Azetylbestimmung ist größte Sauberkeit die Grundbedingung.

Das Destillierkölbchen, der Innenschlifftrichter, das U-Rohr, der Silberkühler und das Quarzkölbchen müssen mit destilliertem Wasser sorgfältig gewaschen und an der Saugpumpe getrocknet werden. Die beiden Schlauchverbindungsstücke sind drei- bis viermal mit destilliertem Wasser auszukochen, wobei es vorteilhaft ist, das destillierte Wasser mit einigen Tropfen Lackmustinktur blau zu färben; das Auskochen muß so lange fortgesetzt werden, bis die Lösung durch die Schlauchstücke nicht mehr rot gefärbt wird. Nach diesen Vorbereitungen wird die Substanz (3 bis 5 mg), am besten in Pastillenform gepreßt, in das Destillierkölbchen eingewogen und dieses dann mit mehrmals ausgekochten und am Wasserbade getrockneten Glasperlen bis zu den seitlichen Ansätzen gefüllt. Mittels des ausgekochten Gummistückes wird dieses nun mit dem U-Röhrchen verbunden, dessen Perlen vorher mit einer gesättigten Lösung von primärem Kaliumphosphat benetzt worden sind. Ein Ueber-

[2] Die hier beschriebenen Apparate sind von der Firma Paul Haack, Wien, IX. Garelligasse 4, zu beziehen.

schuß von Kaliumphosphatlösung muß durch Ausblasen oder besser durch Absaugen mit der Saugpumpe entfernt werden, jedoch so, daß die Glaswolle im U-Röhrchen absolut trocken bleibt, weil sonst Kaliumphosphat in die Vorlage mitgerissen werden kann. Das U-Rohr wird nun mittels des zweiten ausgekochten Gummischlauchstückchens mit dem Silberkühler verbunden. Die Schlauchverbindungen des Kölbchens mit dem U-Rohr und des U-Rohres mit dem Kühler müssen Glas an Glas sitzen. Dann schaltet man das Quarzkölbchen an, das mit n/100 NaOH[3] als Vorlage beschickt ist. Es ist empfehlenswert, die Natronlauge von vorneherein mit Phenolphthalein zu versetzen, um bei der Destillation sofort zu erkennen, ob genug Lauge vorgelegt worden ist. Im Falle der Entfärbung hat die Analyse als verloren zu gelten. Der Silberkühler soll die Oberfläche der Natronlauge gerade berühren. Schließlich verbindet man noch das Natronkalkröhrchen mit dem Destillierkölbchen, und jenes mit einem längeren Schlauchstücke mit dem Blasenzähler, der mit Natronlauge beschickt ist. Zwischen Blasenzähler und Natronkalkröhrchen ist der Schlauch mittels eines Schraubenquetschhahnes vollständig abgeklemmt. Man setzt nun den Tropftrichter ein, wobei man den Gummistopfen mit einem Tropfen Wasser dichtet.

Zur Durchführung der Verseifung gibt man durch den Tropftrichter 1 ccm 25%ige p-Toluolsulfosäure zu, dichtet den Innenschliff mit einem Tropfen Wasser und erhitzt das Kölbchen in einem Wasserbade 20 Minuten auf 100°, falls das Azetyl am Sauerstoff hängt; bei N-Azetylverbindungen ist eine Verseifungsdauer von 40 Minuten notwendig.

Nach dieser Zeit kühlt man das Kölbchen durch Eintauchen in kaltes Wasser ab und schaltet nach dem Abkühlen bei geschlossenem Quetschhahn langsam die Saugpumpe an. Es ist von großer Wichtigkeit, daß die Saugpumpe ein Vakuum von mindestens 15 mm Hg liefert, denn nur in absoluter Dichtigkeit sämtlicher Schlauchverbindungen liegt die Voraussetzung des Erfolges. Der Schraubenquetschhahn wird nun vorsichtig so weit geöffnet, daß den Blasenzähler etwa eine Blase pro Sekunde passieren kann. Nach etwa 10 Minuten ist der Inhalt des Kölbchens zur Trockne eingedampft. Man kühlt neuerdings und fügt nach dem Abkühlen durch den Tropftrichter 1 ccm Wasser nach, ohne das Vakuum zu unterbrechen, und destilliert wieder zur Trockne ab, was wiederum ungefähr 10 Minuten in Anspruch nimmt. Ein Teil der Essigsäure befindet sich noch im U-Rohr und muß aus diesem ebenfalls durch Abdestillieren bis zur Trockne in die Vorlage übergeführt werden. Das

[3] Pregl, „Das Näherungsverfahren" bei der Bereitung von Normallösungen. Zeitschr. f. anal. Chemie, 69. Bd., 1925, S. 23.

geschieht durch vorsichtiges Eintauchen des U-Rohres in ein mit heißem Wasser gefülltes Becherglas, und zwar so, daß man zuerst nur die Oberfläche des heißen Wassers mit dem U-Rohr berührt und erst dann weiter eintaucht, wenn die Lösung an der untersten Stelle des U-Rohres zur Trockne gekommen ist, weil bei zu raschem Eintauchen Phosphat durch die Glaswolle mitgerissen werden kann. Nachdem das U-Rohr 10 Minuten vollständig in heißes Wasser eingetaucht war, ist die Destillation beendet und man unterbricht das Vakuum durch vorsichtiges Oeffnen des Innenschliffes beim Tropftrichter. Darauf entfernt man möglichst rasch den Vakuumschlauch von der Vorlage.

Der Silberkühler wird nun nach Abnehmen des U-Rohres und des Pumpenschlauches nach entsprechender Schrägstellung von oben mit destilliertem Wasser ausgewaschen und nach Abnehmen der Vorlage auch der in diese hineinreichende Teil von außen. Die vorgelegte Natronlauge wird mit n/100 Salzsäure neutralisiert. Dann fügt man noch 1 ccm n/100 Salzsäure zu, kocht etwa 20 Sekunden lang und titriert mit Natronlauge noch heiß zurück. Sollte nach dem Aufkochen die Flüssigkeit rot gefärbt sein, so ist der Vorgang mit noch 1 ccm Salzsäure zu wiederholen. Der Endpunkt der Titration mit Natronlauge ist durch das Auftreten der ersten Spur einer auch nach dem Umschütteln etwa noch 30 Sekunden bestehenbleibenden Rotfärbung gekennzeichnet.

Analysen:

Heptazetyl — α-methyl — Gentiobiosid. Ber. 46,3% $COCH_3$.

mg Subst.	verbrauchten ccm n/100 NaOH	% $COCH_3$ gef.
2,275	5,64	46,0
5,193	5,58	46,2

Oktazetyl — Gentiobiose. Ber. 50,7% $COCH_3$

mg Subst.	verbrauchten ccm n/100 NaOH	% $COCH_3$ gef.
2,996	3,51	50,4
3,600	4,25	50,8

Pentazetylkatechin. Ber. 43,0% $COCH_3$.

mg Subst.	verbrauchten ccm n/100 NaOH	% $COCH_3$ gef.
8,418	8,36	42,7
4,773	4,75	42,8

Auch an dieser Stelle möchten wir den besten Dank den Herren Kollegen Helferich (Greifswald) und Freudenberg (Heidelberg) für die Ueberlassung wertvoller Azetylverbindungen aussprechen.

Beiträge zur qualitativen Mikroanalyse (III).*

Von F. Feigl.

(Mitbearbeitet von G. Hirsch und J. Tamchyna.)

(Aus dem II. Chem. Univ.-Inst., Wien.)

Im nachfolgenden werden einige Nachweise beschrieben, die nach ihrer Empfindlichkeit und Erfassungsgrenze als mikrochemisch bezeichnet werden können. Sie sind zum Teil von weitgehender Spezifität und bieten dadurch die Möglichkeit, in der Methodik gewisser Nachweise Vereinfachungen zu erzielen. Bemerkenswert dürfte der eigenartige Chemismus sein, der einigen Nachweisen zugrunde liegt, auf den im Hinblick auf zweifellos noch auffindbare und mikrochemisch auswertbare Analogiefälle hingewiesen sei.

I. Nachweis von Rhodanion.

Diesem Nachweis liegt die Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit des Jods gegenüber Natriumazid (NaN_3) zugrunde, die erstmalig von F. Raschig[1] beobachtet worden ist: Jod ist auf eine NaN_3-Lösung ohne sichtbare Einwirkung, nach Zusatz eines $Na_2S_2O_2$ oder Na_2S-Kriställchen erfolgt jedoch stürmische Stickstoffentwicklung und quantitative Oxydation von NaN_3 gemäß: $2\,NaN_3 + J_2 = 2\,NaJ + 3\,N_2$. Wie eigene Untersuchungen ergaben, sind auch andere anorganische und organische Sulfide befähigt, die für sich allein nicht verlaufende Jod-Azid-Reaktion auszulösen, und es ließ sich darauf ein neuer, mit sehr geringem Material und Zeitaufwand ausführbarer Nachweis von löslichen und unlöslichen Sulfiden gründen[2], der auch neben Sulfaten und Sulfiten, sowie freiem Schwefel eindeutig ist und daher gegenüber der bekannten Heparreaktion wesentliche Vorteile besitzt. Da sich noch in einem Tröpfchen einer $^1/_{10000}$n-Lösung von $Na_2S_2O_3$ (Erfassungsgrenze 0,0000158 mg in 1 cmm) sowie in einem Stäubchen eines Sulfides oder auf einem Sulfidbelage bei Legierungen der sulfidisch gebundene Schwefel erkennen läßt, darf die Jod-Azidreaktion auf Sulfide und Thiosulfate als ein mikrochemischer Nachweis gelten. Das Charakteristische an diesem Nachweis

* Siehe Mikrochemie II (1924), 186.

[1] Ber. 48 (1915), 2088.

[2] F. Feigl, Z. f. anal. Ch. 74 (1928), 869. — Ueber Sulfidnachweis in Gesteinen: F. Feigl und H. Leitmeier, Mineral. und petrogr. Mitt., Bd. 39 (1928), 241.

ist, daß durch eine induzierte beziehungsweise Katalysenreaktion der Induktor beziehungsweise Katalysator erkannt wird[3].

Neuerdings konnte festgestellt werden, daß auch Rhodanide die Jod-Azidreaktion induzieren und durch die dabei stattfindende Stickstoffentwicklung mit großer Empfindlichkeit nachweisbar sind.

Als Reagenslösung wird eine n/10-Jodlösung verwendet, die in 100 ccm 1, 3 g NaN_3 enthält. (Die Lösung kann vorrätig gehalten werden.) Auf Zusatz einiger Tropfen dieser Lösung zu einer Lösung eines Rhodanids erfolgt lebhafte Stickstoffentwicklung unter Entfärbung des Jods. Der CNS'-Nachweis gelang noch deutlich in 2 ccm einer n/10.000-KCNS'-Lösung, die 0,019 mg KCNS enthielten, was einer Empfindlichkeit von 1 : 111.000 entspricht. Durch Cl'- und Br'-Ionen wird die Empfindlichkeit des Rhodanidnachweises nicht beeinträchtigt; wir konnten noch 0,019 mg KCNS in 2 ccm H_2O nachweisen, das mit NaCl, NaBr oder KBr gesättigt war. Für solche Fälle stellt die Azidreaktion auf Rhodanide gegenüber der bekannten Eisenrhodanidreaktion keinen Vorteil dar, da letztere hinreichend empfindlich und eindeutig ist. Hingegen besteht ein Bedürfnis für einen schnellen Rhodannachweis bei Gegenwart von Oxal-, Weinsäure (sowie anderen organischen Oxysäuren), Phosphorsäure, Ferrozyanwasserstoffsäure, vor allem aber in Gegenwart von Jodiden, da bekanntlich durch Bildung komplexer Eisensalze bei Anwesenheit der organischen Säuren sowie von P_2O_5, die Rhodanidreaktion gänzlich verhindert oder zumindestens gehemmt wird, und mit Ferrozyanid Berlinerblau entsteht; bei Anwesenheit von Jodiden ist sie deshalb nicht anwendbar, weil das gemäß $2Fe^{\cdots} + 2J' = 2Fe^{\cdot\cdot} + J_2$ freigemachte Jod die Erkennung des roten $Fe(CNS)_3$ unmöglich macht. Wir fanden, daß die durch CNS' auslösbare Jod-Azidreaktion von den erwähnten organischen Säuren nicht beeinträchtigt wird, da sich noch 0,019 mg KCNS in 2 ccm Flüssigkeit nachweisen ließ, die mit Na-Oxolat oder Seignettsalz gesättigt war. Wesentlich unempfindlicher wird der Rhodanidnachweis bei gleichzeitiger Anwesenheit von Na_3PO_4 oder $K_4Fe(CN)_6$. Es waren in 2 ccm noch erkennbar:

0,03 mg KCNS neben 0,001 g Na_3PO_4
0,03 mg KCNS neben 0,03 g $K_4Fe(CN)_6$

Bei der Durchführung des Rhodannachweises mittels der Jod-Azidreaktion wurde zunächst wider aller Erwartung eine Verhinderung der

[3] Was den Mechanismus der Reaktion anlangt, so ist es allem Anschein nach lediglich das an sulfidisch gebundenen Schwefel koordinierte Jod, welches mit NaN_3 gemäß obiger Gleichung reagiert.

Reaktion bei Anwesenheit kleiner Mengen Rhodanid neben sehr großen Mengen Jodiden festgestellt, demnach ein Versagen des Nachweises gerade in jenem Falle, der praktisch von wesentlicher Bedeutung ist. Es zeigte sich übrigens auch, daß gewisse Sulfide (zum Beispiel ZnS), die beim Uebergießen mit 2 ccm einer Jodazidlösung stürmisch Stickstoff entwickeln, wesentlich langsamer reagieren, wenn die Reagenslösung vorher mit KJ gesättigt wurde. Die Ursache der Beeinträchtigung der Jodazidreaktion durch große Mengen gleichzeitig anwesender Jodionen ist vielleicht in der Lage des für eine wäßrige Jod-Jodkaliumlösung gültigen Gleichgewichtes: $K(J\cdots J_2) \rightleftharpoons K^{\cdot} + (J\cdots J_2)' \rightleftharpoons K^{\cdot} + J' + J_2$ zu suchen: dasselbe muß durch Jodionen nach der linken Seite verschoben werden, wodurch sich die Menge des freien, nicht polyjodidartig gebundenen Jods erniedrigt. Gemäß der Annahme, daß lediglich das an sulfidisch gebundenen Schwefel koordinierte Jod die Oxydation des NaN_3 bewirkt, würde die Hemmung dieser Oxydation durch große Mengen Jodide durchaus verständlich erscheinen, denn durch weitgehende Zurückdrängung des für eine Koordination an Schwefel notwendigen freien Jods muß auch die Jodazidreaktion ausbleiben[4].

Um daher kleine Mengen Rhodanide vermittels der Jodazidreaktion auch bei Gegenwart sehr großer Jodidmengen nachzuweisen, ist eine Entfernung der Jodionen erforderlich; dieselbe läßt sich in einfachster Weise durch Zusatz von $HgCl_2$ bewerkstelligen, wodurch gemäß $Hg^{\cdot\cdot} + 4J' \rightleftharpoons [HgJ_4]''$ komplexes Merkurijodion gebildet wird, welches auch, wie die Versuche ergaben, die Auslösung der Jodazidreaktion durch Rhodanide nicht behindert.

Vorschrift zum Nachweis von Spuren KCNS in Kaliumjodid.

Zur Probelösung wird tropfenweise eine kaltgesättigte wäßrige Lösung von $HgCl_2$ hinzugefügt, bis ein geringer bleibender Niederschlag von HgJ_2 entsteht, und hierauf erst die Jodazidlösung zufließen gelassen. Eine hiebei auftretende Stickstoffentwicklung zeigt die Anwesenheit von CNS' an.

Auf diese Weise konnten in 2 ccm einer $^1/_{10000}$n-KCNS-Lösung noch 0,019 mg KCNS neben 95 mg KJ nachgewiesen werden, was einem Verhältnis KCNS : KJ = 1 : 50.000 entspricht.

[4] Gegen diese Auffassung spricht allerdings der Umstand, daß Vermehrung der $K^{\cdot}$-Ionen die Jod-Azidreaktion nicht wesentlich hemmt.

Die bisher übliche Methode zum Nachweis von Rhodaniden neben Halogenen und Zyaniden besteht bekanntlich darin[5], zuerst die Blausäure zu entfernen, dann mittels $AgNO_3$ das Rhodan gemeinsam mit den übrigen Halogenen als Silbersalze auszufällen, mittels NH_3 das AgCNS (neben AgCl und AgBr) herauszulösen, das ammoniakalische Filtrat mit Ammonsulfid umzusetzen, von Ag_2S abzufiltrieren und in dem so gewonnenen Filtrat nach Einengen mit Soda und Ansäuern die Eisenrhodanidreaktion anzustellen.

Gegenüber diesem umständlichen Verfahren oder einer Oxydation des Rhodanschwefels zu H_2SO_4, bei welchen sich kleine Rhodanmengen dem Nachweis entziehen können, verdient die einfache und zugleich empfindliche Jod-Azidreaktion zweifellos den Vorzug.

Vorschrift zum Nachweis von Rhodaniden neben Sulfiden und Thiosulfaten.

Da Sulfide und Thiosulfate gleichfalls die Jodazidreaktion auslösen, ist zum Nachweis von CNS′ neben S″ und S_2O_3″ die Entfernung der Schwefelverbindungen erforderlich; dieselbe kann gleichfalls durch Fällung mit $HgCl_2$ bewirkt werden, wobei aber eine Filtration vom ausgefällten HgS beziehungsweise $2HgS \cdot HgCl_2$ erforderlich ist, da ja auch feste Sulfide mit einer Jodazidlösung reagieren. Wenngleich durch Adsorption von Rhodanid an gefälltes HgS (beziehungsweise Hg-Sulfosalz) und Vergrößerung des Flüssigkeitsvolumens die Rhodanidkonzentration im Filtrat herabgesetzt wird, waren immerhin in 2 ccm Probelösung nach erfolgter Fällung und zweimaligem Waschen mit je 2 ccm H_2O noch 0,000037 g KCNS neben 0,0158 g $Na_2S_2O_3$ einwandfrei nachweisbar.

Ueber den Nachweis von Rhodaniden neben organischen schwefelhaltigen Verbindungen, welche gleichfalls die Jod-Azidreaktion auslösen, haben wir keine Untersuchungen angestellt. Soweit es sich um SH-haltige Verbindungen handelt, dürfte eine Fällung derselben mit $HgCl_2$ möglich sein. Wie bei anderen Verbindungen und beim Nachweis anorganischer neben organischen Sulfiden zu verfahren wäre, müßten erst weitere Untersuchungen zeigen.

II. Nachweis von Fluoriden in festen Substanzen.

Für den Nachweis von Fluoriden, der zweifellos zu den schwierigsten analytischen Aufgaben gehört, verdanken wir den in der letzten

[5] F. P. Treadwell, Lehrbuch der anal. Chemie, I. Bd. (1917), 319.

Zeit erscheinenden Arbeiten von J. H. de Boer[6] sowie von F. Pavelka[7] einen neuen und originellen Weg, der darin besteht, daß Fluoride, die in saurer Lösung beständige, lösliche, rotviolette Verbindung von Zirkonfluorwasserstoffsäure $H_2[ZrF_6]$ und von freiem Alizarin, das in saurer Lösung eine schwefelgelbe Farbe besitzt; Voraussetzung für die Durchführung des Fluornachweises vermittels der Zirkon-Alizarinlösung war das Vorliegen löslicher Fluoride, was zumeist wohl einen vorhergehenden Sodaaufschluß des Probegutes nötig macht, ferner die Abwesenheit von Phosphor- und Oxalsäure.

Ein direkter Nachweis auch unlöslicher Fluoride ist aber mittels der Zirkon-Alizarinatprobe gleichfalls möglich; derselbe gründet sich auf folgende Beobachtungen: Gefälltes und natürlich vorkommendes Kalziumfluorid löst sich in Gegenwart geringer Säuremengen außerordentlich leicht in einer warmen wäßrigen Lösung solcher Salze, die komplexe Fluoride zu bilden vermögen. Reines CaF_2 wird zu einer klaren Flüssigkeit gelöst; bei unreinen Produkten hinterbleibt lediglich die sogenannte „Gangart"[8].

Zu den Salzen, die einen derartigen nassen Aufschluß von CaF_2 gestatten, gehört Borax, wobei offenbar Borfluorsäuren entstehen, ferner Be-, Al-, Fe- und Zr-Salze, deren lösende Wirkung sich erwarten ließ, da ja die entsprechenden Metallfluorwasserstoffsäuren zumindest in Form ihrer Alkalisalze schon längst bekannt sind.

Eine salzsaure Lösung der Zirkonalizarinverbindung wirkt nun auch auf unlösliches CaF_2 ein unter Bildung von $CaCl_2$, $H_2[ZrF_6]$ und freiem Alizarin. Der Nachweis kann so geführt werden, daß auf einen Objektträger eine ganz kleine Menge des gepulverten Fluorids mit einem Tropfen der violetten Reagenslösung verrührt wird: es tritt augenblicklich Gelbfärbung auf. Auch an Kristallflächen von natürlichem Flußspat gelingt der Nachweis nach zirka einer halben bis einer Minute Berührung mit der Reagenslösung; kleine Mengen von gepulvertem Apatit $3Ca_3(PO_4)_2 . CaF_2$ (zirka 3% F) rufen gleichfalls nahezu momentan Gelb-

[6] Chem. Weekbl. 21, 404 (1924).

[7] Mikrochemie VI (1928), 149.

[8] Ueber die Verwendung dieser Aufschlußmethode für die gravimetrische Analyse von Fluoriden sind Untersuchungen im Gange. Bemerkt sei, daß bereits de Boers und J. Basart unlösliche Fluoride in $ZrOCl_2$-Lösungen auflösen und darin das Fluor mittels Alizarin als Indikator titrieren. (Zeitschr. f. anorg. Chemie 152 (1926), 213).

färbung hervor, während gefälltes tertiäres Kalziumphosphat unter den gleichen Bedingungen erst nach einigen Minuten wirkt[9].

In einem Gemenge von CaF_2 und $BaSO_4$, das einem Mischungsverhältnis 1 : 200 entsprach, konnte in einem Häufchen von zirka 2 mg die Anwesenheit von CaF_2 noch leicht erkannt werden, was einer absoluten Menge von etwa 10 µg entspricht.

Als Reagenslösung, die vorrätig gehalten werden kann, hat sich folgende Mischung bewährt: 0,05 g $Zr(NO_3)_4$ werden in 50 ccm H_2O und 10 ccm HCl (konz.) gelöst und mit einer Lösung von 0,05 g Alizarinsulfosaurem Natrium in 50 ccm H_2O vereinigt.

Während der Fluornachweis mittels Zirkonalizarinat neben Phosphaten und Oxalaten in wäßriger Lösung nicht ausführbar ist, weil infolge der schnellen Bildung von säureunlöslichem Zirkonphosphat oder komplexer Zirkonphosphor- beziehungsweise Oxalsäure gleichfalls Gelbfärbung auftritt, bietet der Umstand, daß auch festes CaF_2 sich umsetzt, die Möglichkeit eines Fluornachweises auch bei Anwesenheit von Phosphor- und Oxalsäure; es ist lediglich notwendig, durch Fällung einer neutralen oder alkalischen Probelosung mit $CaCl_2$ und hernach folgende Digestion mit verdünnter Mineralsäure das CaF_2 zu isolieren und dieses mittels der Zirkonalizarinatlösung zu identifizieren.

Daß die Zirkonalizarinatprobe nach erfolgtem Aufschluß und Abscheidung von CaF_2 an Stelle der umständlicheren und wenig empfindlichen Aetzprobe stets angewendet werden kann, versteht sich von selbst, desgleichen, daß die Entfernung der für die Aetzprobe schädlichen SiO_2 unterbleiben kann.

III. Nachweis von Kupferspuren.

Trotzdem wir für den Nachweis von Cu eine große Zahl, zum Teil auch mikrochemisch auswertbare Methoden besitzen, verdient wegen des interessanten Chemismus der nachfolgende Nachweis einige Beachtung; er stellt die Umkehrung eines in der letzten Zeit von R. Montequi[10] beschriebenen, sehr empfindlichen Zinknachweises dar.

Sowohl Zn- als auch Cu-Salze liefern mit einer $Hg(CNS)_2$-Lösung, die noch überschüssiges NH_4CNS enthält, unlösliche kristallisierte Kom-

[9] Der schnelle Nachweis von Fluor in Gesteinen stellt vor allem für mineralogische Zwecke ein Bedürfnis dar, dem weitere Versuche, die gemeinsam mit Herrn Prof. Dr. H. Leitmeier im Mineralogischen Institut der Universität ausgeführt werden, vorbehalten bleiben sollen.

[10] C. Bl. 1927, I, 2453.

plexverbindungen von der Zusammensetzung $Zn[Hg(CNS)_4]$ und $Cu[Hg(CNS)_4]$; erstere ist weiß, letztere gelbgrün. Die beiden Verbindungen gesondert hergestellt und dann in aliquoten oder wechselnden Mengen vermischt, liefern Produkte, welche die Mischfarbe der Bestandteile besitzen. Wird aber eine Lösung, die gleichzeitig Zn- und Cu-Salze enthält, mit einer NH_4CNS-hältigen $Hg(CNS)_2$-Lösung gefällt, so entsteht ein tiefvioletter Niederschlag, dessen absonderliche Farbe offenbar von einer nur auf diese Weise darstellbaren Komplexverbindung aus Cu-, Zn- und Hg-Rhodanid herrühren dürfte.

Montegui weist nun Zink nach Zusatz einiger Tropfen einer verdünnten $CuSO_4$-Lösung durch Bildung eines rotvioletten Niederschlages nach, wobei sich noch 0,01 mg Zn in 2 bis 3 ccm nachweisen lassen, demnach gemäß der Erfassungsgrenze ein mikrochemischer Nachweis für Zink[11].

Der Nachweis von Cu-Spuren läßt sich auf folgende Weise durchführen: Zu der neutralen oder schwach sauren Probelösung werden einige Tropfen einer verdünnten $Zn(NO_3)_2$-Lösung hinzugefügt und in der Kälte mit einigen Kubikzentimetern einer Lösung von 8 g $HgCl_2$ und 9 g NH_4CNS in 100 ccm versetzt. (Die Reagenslösung[12] kann vorrätig gehalten werden.) An der Bildung eines je nach der Cu-Menge tiefvioletten bis hellrosafarbenen Niederschlages kann das Vorliegen von Cu erkannt werden. Bei ganz geringen Cu-Mengen empfiehlt sich die Anstellung einer Parallelprobe mit einer reinen Zinklösung. Auf diese Weise lassen sich noch 0,00075 mg Cu in 1 ccm einer Lösung nachweisen, was einer Empfindlichkeit 1 : 1,500.000 entspricht. Auch in Form einer Tüpfelreaktion läßt sich Cu erkennen, indem man nacheinander je einen Tropfen der Probelösung, Zinknitrat und des Reagens auf ein quantitatives Filtrierpapier oder auf einen Objektträger bringt und einige Zeit wartet; bei Anwesenheit von 0,0003 mg Cu in einem Tropfen ($V = 0{,}05$ ccm) entsteht auf dem Filtrierpapier ein hellrosa Fleck. Wie empfindlich der vorstehend beschriebene Nachweis ist, geht auch aus folgendem Versuch hervor: In ein 300 ccm Leitungswasser enthaltendes Becherglas wurde ein 1 mm dicker Draht im Gewicht von 2,24 g eingelegt und zeitweise umgeschüttelt. Nach 24 Stunden waren Spuren, nach 100 Stunden bereits merkliche Mengen Kupfer mit $Zn(NO_3)_2$ und $Hg(CNS)_2$

[11] Starke Säure, große Mengen von Alkalichloriden sowie von Cu, Cd, Co und Ni beeinträchtigen allerdings die Empfindlichkeit bzw. Eindeutigkeit der Reaktion (Montegui l. c.)

[12] Sie entspricht einer Lösung von $(NH_4)_2[Hg(CNS)_4]$.

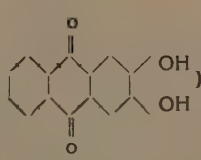
nachweisbar. Diese Nachweisart dürfte demnach für die schnelle Feststellung eines Kupfergehaltes in Gebrauchswässern dienlich sein.

In 5 g reinem Stearin konnten nach Auflösung in Alkohol, Zusatz einiger Tropfen einer verdünnten $Zn(NO_3)_2$-Lösung, mittels der Fällung durch $[Hg(CNS)_4](NH_4)_2$ gleichfalls Kupferspuren erkannt werden.

Die Empfindlichkeit des Cu-Nachweises mittels $Hg(CNS)_2$ und $NH_4(CNS)$ bei Gegenwart von Zn-Salzen kann vorteilhaft auch dazu benützt werden, um in metallischem Zink beziehungsweise Kadmium einen kleinen Cu-Gehalt zu erkennen. In Ermanglung diesbezüglicher Originalproben wurde der Grenzwert der Empfindlichkeit des Cu-Nachweises bei Gegenwart großer Mengen $Zn(NO_3)_2$ und $Cd(NO_3)_2$ — in letzterem nach Zusatz einiger Tropfen $Zn(NO_3)_2$-Lösung — festgestellt. Es ergab sich, daß in je 2 ccm einer Lösung, die 0,009 mg Cu neben 0,46 g Zn beziehungsweise 0,91 g Cd enthielt, das Cu noch deutlich zu erkennen war. Das entspricht einem Verhältnis Cu : Zn = 1 : 50.000 beziehungsweise Cu : Cd = 1 : 100.000 oder einem Gehalt von 0,002% Cu im Zn- beziehungsweise 0,001% Cu im Cd-Metall. Demnach würde die Auflösung von 1 g Metall in HNO_3 und Aufnahme des Trockenrückstandes in 2 ccm Wasser genügen, um den Cu-Nachweis vornehmen zu können.

Wir konnten feststellen, daß auch bei Gegenwart von Fe(III)-Salzen des $Zn[Hg(CNS)_4]$ violett angeführt wird; Eisensalze könnten demnach die Anwesenheit von Kupfer vortäuschen. In solchen Fällen kann aber durch Zusatz von Alkalioxalat vor Anstellung des Nachweises die Eisenreaktion verhindert werden.

IV. Zwei schnell durchführbare Unterschiedsreaktionen zwischen destilliertem und Gebrauchswasser.

Das Histazarin (2, 3 Dioxyanthrachinon ) löst sich in verdünntem NH_3 mit blauer Farbe unter Bildung eines wasserlöslichen Ammonsalzes. Wird zu 1 bis 2 ccm einer derartigen blauen Lösung 2 bis 3 Tropfen Leitungswasser hinzugefügt, so erfolgt momentan eine Umfärbung nach Rotviolett. Diese Umfärbung rührt offenbar von Kalk beziehungsweise Magnesiumsalzen des Histazarins her, die in der ammoniakalischen Lösung entstehen.

Die Bestimmung der Empfindlichkeit und der Erfassungsgrenze dieses Nachweises für Kalksalze ergab, daß noch folgende Kalziummengen nach Zusatz einiger Tropfen ammoniakalischer Histazarinlösung an der Umfärbung zu erkennen waren.

In 1 ccm einer $CaCl_2$-Lösung . . . 0,004 mg Ca; Empf. 1 : 250.000

Die Reagenslösung ist unmittelbar vor dem Nachweis durch Lösen einiger Milligramm Histazarin in einigen Kubikzentimetern 10%iger NH_3 herzustellen, da sie nicht beständig ist, sondern nach längerem Stehen sich nach Violett umfärbt.

Eine andere, noch empfindlichere Reaktion auf den Ca-Gehalt im Wasser läßt sich mit einer wäßrigen Lösung von chrysaminsaurem Natrium[13] ausführen. Verrührt man einen Tropfen Leitungswasser mit einem Tropfen des Reagens, so entsteht sofort eine kristallinische Fällung des roten Kalksalzes, die durch ihr Glitzern im auffallenden Lichte besonders leicht wahrnehmbar ist. Unter dem Mikroskop betrachtet, bilden die Kristalle sehr charakteristische Nadelbüschel in der Form der Gypskristalle. Als Tropfenreaktion auf einem Uhrglas durchgeführt, ließen sich noch 0,0003 mg in einem Tropfen (0,05 ccm) einer $CaCl_2$-Lösung erkennen, was einer Empfindlichkeit 1 : 150.000 entspricht.

Sr-Salze verhalten sich so wie Ca-Salze. $MgCl_2$ ruft erst in einer Verdünnung 1 : 1000 einen Niederschlag hervor.

Die Lösung von chrysaminsaurem Natrium wurde hergestellt durch Eintragen von fester Chrysaminsäure in 100 ccm n/250NaOH und Filtration von der ungelösten Säure; das Reagens kann vorrätig gehalten werden.

V. Nachweis geringer Mengen von freiem Alkali in Wasser ohne Farbindikatoren.

Die von K. H. Hoffmann und H. Wagner[14] dargestellte Verbindung $Hg(CN)_2 . AgNO_3$ zeigt in ihrer wäßrigen Lösung eine bemerkenswerte Empfindlichkeit gegenüber OH'-Ionen, bei deren Gegenwart Silberzyanid entsteht, während ansonsten $Hg(CN)_2$ und $AgNO_3$ nicht miteinander reagieren. Diese erhöhte Reaktionsfähigkeit[15] des Quecksilberzyanids läßt sich nun zu einer Reihe neuer analytischer Bestimmungsmethoden verwenden[16]. Die Ursache der CN'-Ion-Abgabe durch

[13] Die Chrysaminsäure ist das 1,8-Dioxy-2, 4, 5, 7-Tetranitroanthrachinon.
[14] Ber. 41 (1908), 317, 1628.
[15] Vgl. auch W. Böttger, Qualit. Analyse, IV. bis VIII. Aufl. (1925) 123.
[16] Hierüber wird an anderer Stelle ausführlich berichtet werden.

$Hg(CN)_2$ ist offenbar darin zu suchen, daß $Hg(CN)_2$ mit KOH beziehungsweise NaOH die Verbindung $Hg(CN)_2 . KOH . H_2O$ beziehungsweise $Hg(CN)_2 . NaOH . H_2O$ bildet, die nach ihrer koordinationschemischen Formulierung das komplexe Ion $\left(\begin{smallmatrix}CN\\CN\end{smallmatrix} Hg \begin{smallmatrix}OH\\OH_2\end{smallmatrix}\right)'$ enthalten, welches gemäß $\left(\begin{smallmatrix}CN\\CN\end{smallmatrix} Hg \begin{smallmatrix}OH\\HO_2\end{smallmatrix}\right) \rightleftharpoons Hg(CN) . (OH) + CN' + H_2O$ zerfällt und hiebei CN'-Ionen liefert, die sich mit gleichzeitig anwesenden Ag-Ionen zu unlöslichem AgCN verbinden. In der Tat scheiden auch alle, selbst sehr schwache Basen sowie die Alkalisalze schwacher Säuren (infolge ihrer Hydrolyse) aus der klaren wäßrigen Lösung von $Hg(CN)_2AgNO_3$ unlösliches AgCN ab. Geringe Mengen von OH'-Ionen rufen naturgemäß nur eine Opaleszenz hervor, die aber hinreichend ist, um die Anwesenheit selbst so geringer OH-Mengen zu erkennen, die nicht mehr imstande sind, Phenolphtalein anzufärben, was demnach in Lösung einem $P_H < 8$ entspricht.

Diese Erscheinung ermöglicht es, eine ganz geringe Alkalität von Nutzwasser sofort zu erkennen, da ein Zusatz von 2 bis 3 ccm der nachstehend beschriebenen Reagenslösung zu etwa 4 bis 5 ccm Leitungswasser bereits genügt, um eine deutliche Trübung (bei kurzem Stehen Abscheidung von AgCN) hervorzurufen. Bemerkenswert ist noch, daß selbst destilliertes Wasser nach zwei Minuten langem Kochen in Glasgefäßen vermutlich durch Lösen von Alkali aus dem Glas gleichfalls durch das Reagens getrübt wird.

Voraussetzung für die Durchführung dieses Alkalinachweises ist natürlich die Abwesenheit von Halogenion.

Darstellung der Reagenslösung: 0,1 Mol $Hg(CN)_2$ wird in möglichst wenig Wasser gelöst, mit 0,1 Mol $AgNO^3$ gleichfalls in wenig Wasser gelöst, vermischt, aufgekocht und filtriert. Beim Stehen in der Kälte kristallisiert die Verbindung $Hg(CN)_2 . AgNO_3$ aus, von welcher eine gesättigte Lösung vorrätig gehalten werden kann.

VI. Tüpfelnachweis für Ammoniak.

Ein von E. Riegler[17] beschriebener, sehr empfindlicher Nachweis für NH_3 beruht darauf, daß eine NH_4-Ionhältige Lösung nach Zusatz von salzsaurem Paranitrodiazobenzol rot gefärbt wird, wenn unter beständigem Schütteln tropfenweise 10% NaOH zugesetzt wird. Bei dieser Reaktion soll nach Fresenius[18] ein farbiges Ammoniumsalz des p-Nitrophenylnitrosamins entstehen.

---

[17] Chem. Ztg. 21, Rep. 307, 1897.

[18] Th. W. Fresenius, Anleitung zur qualit. chem. Analyse, 17. Aufl., 1919, Seite 125.

Als Tüpfelreaktion läßt sich dieser Nachweis auf Papier deshalb nicht ausführen, weil sich der erforderliche geringe NaOH-Ueberschuß nicht dosieren läßt; es erfolgt auch bei Abwesenheit von NH_4-Salzen stets eine Tiefrotfärbung. Hingegen läßt sich der Nachweis auf einem Objektträger mit beträchtlicher Empfindlichkeit ausführen, wenn man folgendermaßen vorgeht:

Auf einen Objektträger wird ein Tropfen der schwach sauren oder neutralen Probelösung gebracht, ein Tropfen der Riegler schen Reagenslösung hinzugefügt und dann ein linsengroßes Häufchen von CaO eingetragen. Bei Anwesenheit von NH_4-Salzen entsteht sofort rings um das CaO eine rote Zone. Eine Eigenreaktion bei Abwesenheit von NH_4-Salzen tritt erst nach längerem Stehen ein. Bei ganz geringen Mengen von NH_3 empfiehlt es sich, mit einem Tropfen Wasser einen Blindversuch anzustellen.

Erfassungsgrenze: 0,67 µg im Tropfen (V = 0,05 ccm); Empf. 1 : 75.500.

Darstellung der Reagenslösung: 1 g p-Nitranilin wird in 20 ccm destilliertem H_2O und 2 ccm HCl unter Erhitzen gelöst; unter starkem Schütteln wird mit 160 ccm H_2O verdünnt und nach dem Abkühlen mit 20 ccm 2,5% $NaNO_2$-Lösung gemischt, wobei sich nach kurzem Schütteln alles löst. Das Reagens trübt sich mit der Zeit, ist aber nach Filtration wieder verwendbar.

Zum mikrochemischen Nachweis von Glyzerin, Aethylenglykol und d-Mannit.

Von Herbert Alber.

Mit einer Textfigur.

(Aus d. Laboratorium f. allg. Chemie a. d. Technischen Hochschule, Graz[1].)

Wenn es auch gerade nicht an Mikroreaktionen auf Glyzerin fehlt[2], so sind sie doch nur in kleiner Anzahl bekannt, und der Wunsch, einige bekannte Makroreaktionen so abzuändern, daß sie für kleine Substanzmengen anwendbar wären, schien gerechtfertigt. Diesem Gedanken entsprang die vorliegende kleine Arbeit.

Zuerst sei daran erinnert, daß man bei dem Mangel an direkten charakteristischen Färbungs- oder Fällungsreaktionen meist genötigt ist, das Glyzerin zunächst in einen anderen Stoff zu verwandeln und erst für diesen (zum Beispiel Akrolein) eine geeignete Reaktion anzuwenden. Natürlich ist ein solches indirektes Verfahren im allgemeinen umständlicher als eine direkte Methode.

Die in Betracht gezogenen Reaktionen betreffen: erstens die Oxydation des Glyzerins zu Glyzerose (Reaktion nach Emil Fischer und J. Tafel), zweitens die Reaktion mit Bleisuperoxyd und Lauge (Reaktion nach Gläser und Morawski) und drittens das Verhalten zu Borsäure (Reaktion nach J. A. Rose). Da diese Reaktionen wesentlich Gruppenreaktionen sind, gelten sie auch für die Verwandten des Glyzerins, zumal für Aethylenglykol und Mannit[3]. Ueber die Empfindlichkeit der Reaktionen vergleiche man die am Schlusse der Abhandlung gegebene Tabelle.

---

[1] Die Arbeit bildet einen Teil der Doktordissertation, die Herr H. Alber im Studienjahr 1927/28 ausgeführt hat. Bei der Zusammenstellung des Materials hat mir Herr Dr. E. Schally wertvolle Dienste geleistet. F. Emich.

[2] F. Emich, Lehrbuch der Mikrochemie, München 1926, S. 214.

[3] Die Versuche wurden ausschließlich mit d-Mannit ausgeführt, es ist natürlich anzunehmen, daß sie bei den optischen Isomeren dieselben Resultate ergeben hätten. — Ueber weitere Glyzerinreaktionen vergleiche noch: C. A. Kohn, Ztschr. analyt. Chem. 30, S. 619 (1891); H. Behrens, Chem.-Ztg. 27, S. 1105 (1903); A. Herzog, Die mikrosk. Untersuchung der Seide, Berlin (1924), S. 117; F. Weiß, Ueber den mikrochem. Nachweis von flüchtigen Aldehyden und Ketonen, Dissertation Jena (1926) 64; C. Neuberg und J. A. Mandel, C. 1916, I. 439; C. Reichl, Dingl. polytechn. Journ. 235, S. 232 (1880), zitiert nach L. Grünhut, Ztschr. analyt. Chem. 38, S. 40 (1899); E. Donath und J. Mayrhofer, Ztschr. analyt. Chem. 20, S. 379 (1881).

I. Reaktion nach Emil Fischer und J. Tafel[4].

Reagenzien: Brom, kalt gesättigte Sodalösung, 20%ige Natronlauge, wäßrige Lösung von schwefliger Säure.

Die bei der Oxydation des Glyzerins mit Brom-Sodamischung in der Kälte entstehende Glyzerose wird entweder durch ihre reduzierenden Eigenschaften oder durch Farbenreaktionen nach H. Molisch[5] und G. Denigès[6] nachgewiesen. Die Oxydation kann beim Arbeiten mit geringen Mengen entweder im Spitzröhrchen, in der Kapillare oder auf dem Objektträger vorgenommen werden.

a) Nachweis der reduzierenden Eigenschaften: Reagens: Fehlingsche Lösung (Beispiel für das Arbeiten im Spitzröhrchen oder in der Kapillare).

Eine Oese[7] voll Glyzerin (absolute Menge etwa 0,1 mg) wird mit der fünffachen Menge Sodalösung versetzt. Zur Oxydation wird die zwei- bis dreifache Menge Brom (auf Glyzerin bezogen) zugegeben und mit der Probe innig vermischt (im Spitzröhrchen durch Quirlen, in der Kapillare durch öfteres Hin- und Herzentrifugieren). Ein etwaiger Bromüberschuß wird nach vollendeter Reaktion (das heißt nach 10 Minuten) mittels schwefliger Säure zerstört, eventuell — um einen zu großen Zusatz von schwefliger Säure zu vermeiden — nach vorherigem Durchleiten von Kohlensäure. Man setzt nun einige Tröpfchen Lauge und Fehlingsche Lösung zu und durchmischt abermals. Die Reaktion tritt schon in der Kälte und entsprechend der Menge der gebildeten Glyzerose[8] mitunter ziemlich rasch ein. Bei Anwesenheit sehr geringer Mengen wird man das Kupferoxydul in die Spitze zentrifugieren und unter dem Mikroskop suchen. Ein leerer Parallelversuch ist zu empfehlen. Erfassungsgrenzen: für Glyzerin 20 μg bis 10 μg, für Aethylenglykol 800 μg, für d-Mannit 90 μg.

b) Nachweis durch Farbenreaktionen: Reagenzien: 1- bis 2%ige alkoholische Lösungen von α-Naphthol, β-Naphthol oder Salizylsäure, Schwefelsäure, d = 1,84, Merck, zur Analyse (Beispiel für das Arbeiten auf dem Objektträger).

---

[4] E. Fischer, J. Tafel, B. 20, S. 3385 (1887); E. Fischer ebenda 23, S. 2125 (1890).

[5] H. Molisch, Monatsh. Chem. 7, S. 198 (1886).

[6] G. Denigès, Compt. rend. Acad. Sciences 148, S. 570 (1909).

[7] F. Emich, Lehrbuch d. Mikrochemie, S. 39 und 40. Die Dosierung erfolgt in Oesen, größere Mengen der Reagenzien sowie das Brom werden aus Kapillarpipettchen gemessen. Bezüglich der Arbeitstechnik vergleiche auch den allgemeinen Teil des mikrochem. Praktikums (1924).

[8] H. Schmalfuß, B. 60, S. 1045 (1927).

Das Versuchströpfchen wird mit etwas Wasser verdünnt und mit der gleichen bis doppelten Menge Sodalösung versetzt. Die Oxydation erfolgt durch „Räuchern" mit Brom. Hernach läßt man die vor Staub geschützte Probe etwa 10 Minuten offen liegen, bis die gelbe Farbe verschwunden ist. Das nun folgende Räuchern mit schwefliger Säure bewirkt eine leichte Kohlensäureentwicklung. Nachdem diese vorüber ist und man eventuell noch eine Spur schweflige Säure zugesetzt hat, wird die Flüssigkeit kurze Zeit über einem Mikrobrenner erwärmt und dann mittels einer Kapillarpipette möglichst vollständig in eine kleine Proberöhre von 2 bis 3 mm Innendurchmesser und 4 cm Länge übertragen. Man fügt 1 bis 2 Tropfen der alkoholischen Reagenslösung zu und unterschichtet vorsichtig mit konzentrierter Schwefelsäure, bis ihr Volumen etwa dem halben bis gleichen Flüssigkeitsvolumen entspricht. Die Färbungen, die mit β-Naphthol sowie mit Salizylsäure auftreten, werden schöner, wenn man sie noch weitere 2 Minuten auf dem Wasserbad erwärmt. Die Färbung wird am besten bei gutem Tageslicht gegen einen rein weißen Hintergrund betrachtet.

Dieser Arbeitsgang gilt für jede der unter den Punkten 1, 2 und 3 beschriebenen Reaktionen.

1. α-Naphthol als Reagens: Die Zuckerarten werden nach der Reaktion von H. Molisch[9] (α-Naphthol und Schwefelsäure) nachgewiesen. Bei Anwendung von Glyzerin bildet sich über der Schwefelsäure eine rein violette Färbung in Form eines Ringes aus. Ein Zuviel an α-Naphthol, sowie nachfolgendes Erhitzen kann zur Folge haben, daß die eigentliche Färbung durch einen dunkelbraunen Ton überdeckt wird. Die Reaktion verläuft bei geringerer Konzentration schöner als bei Anwesenheit größerer Mengen. Erfassungsgrenze 20 μg Glyzerin.

Aethylenglykol gibt in Mengen von über 2 mg mit α-Naphthol und Schwefelsäure schöne violette Färbungen, ähnlich jenen des Glyzerins. Bei geringeren Mengen geht der Farbton in ein schwaches Rosa über, das sich im ganzen oberen Teil des Proberöhrchens ausbreitet. Die Empfindlichkeit ist weit geringer als bei Glyzerin. Erfassungsgrenze 800 μg Glykol.

d-Mannit gibt eine blau-violette Färbung. Erfassungsgrenze 10 μg.

---

[9] H. Molisch, l. c.

2. β-Naphthol als Reagens: Nach G. Denigès[10] erhält man mit β-Naphthol bei Anwendung von Glyzerin rein smaragdgrüne Färbungen. Bei der beschriebenen Arbeitsmethode bildet sich jedoch aus dem vorhandenen Natriumbromid und der Schwefelsäure etwas Brom, welches den Farbton mehr oder weniger ändert. Er tritt als Ring über der Schwefelsäure auf, ist in der Kälte lichtgrün, wird beim Erhitzen dunkler, öfter schlägt er auch ins Blaugrüne um. Das Erhitzen auf dem Wasserbad soll etwa 2 Minuten währen, damit sich die Färbung schön ausbildet.

Wesentlich ist die völlige Entfernung des bei der Oxydation mit Brom entstandenen Hypobromites mit Hilfe der schwefligen Säure. Erfassungsgrenze: 60 μg Glyzerin.

Bei Aethylenglykol hat H. Wolff[11] nach der Reaktion von Denigès ähnliche Färbungen wie bei Glyzerin erhalten. Dagegen fand ich nach der Oxydation einen deutlichen Unterschied im Verhalten der entstandenen Stoffe gegenüber β-Naphthol und Schwefelsäure. Glykol gab außer einer schwach grünen Färbung im unteren Teil des Farbenringes eine deutlich pfirsichblütenartige Färbung im oberen Teil der Flüssigkeit. Bei weniger als 1 mg verändert sich die Farbe nach violett-rot. Auf Grund dieses verschiedenen Verhaltens von Glyzerin und Glykol kann man sie voneinander unterscheiden.

Die Gegenwart von Natriumbromid verstärkte diese violette Farbe, wenngleich sie auch bei Abwesenheit von Bromion sichtbar war. Zur Kontrolle wurden Parallelversuche ausgeführt, bei denen in der einen Probe das überschüssige Bromion mit Silbersulfat oder Silberazetat ausgefällt und erst das Filtrat mit β-Naphthol und Schwefelsäure behandelt wurde. Stets trat die violett-rote Farbe auf, wenn Glykol in der ursprünglichen Probe gewesen war. Das Silberion hat keinen Einfluß. Entgegen den Literaturangaben[12] erhielt ich also beim Unterschichten mit Schwefelsäure violett-rote oder pfirsichblütenfarbige Ringe. Im unteren Teil des Röhrchens war allerdings ein schwach grüner Ring zu sehen, der bei Gegenwart von viel Natriumbromid durch eine braune Farbe verdeckt sein konnte. Das Räuchern mit Brom soll daher nicht länger als ein bis zwei Minuten dauern. Zur richtigen Ausbildung der Färbung ist ein etwa zwei Minuten währendes Erwärmen auf dem Wasserbad nötig. Erfassungsgrenze 300 μg Glykol.

---

[10] G. Denigès, l. c. Die Oxydation des Glyzerins wird mit Bromwasser in der Siedehitze vorgenommen und der Ueberschuß von Brom weggekocht. Die auf diese Weise gebildete Glyzerose wird mit Schwefelsäure und dem Reagens (Codein und Phenole oder Salizylsäure und Guajakol bei Gegenwart von KBr) versetzt und die entstehende Färbung nach dem Erhitzen auf dem Wasserbad beobachtet.

[11] H. Wolff, Chem.-Ztg. 41, S. 608 (1917).

[12] Auch beim Arbeiten nach der Vorschrift Denigès' erhielt ich diese violett-roten Färbungen.

d-Mannit gibt in der Kälte einen violett-roten Ring, der beim Erhitzen über Rotgelb in ein dunkles, undurchsichtiges Braun übergeht. Geringe Mengen verursachen eine rötlichgelbe, nicht charakteristische Färbung. Erfassungsgrenze: 30 µg.

3. Was die Anwendung von Salizylsäure als Reagens anbelangt, habe ich den Angaben von Denigès nichts Wesentliches hinzuzufügen, nur habe ich bei meiner Arbeit öfters mit 3 µg keine ausgesprochene Reaktion erhalten, es wurde daher die Erfassungsgrenze vorsichtshalber mit etwa 6 µg angegeben.

Glykol gibt die gleiche, aber weniger intensive Färbung wie Glyzerin. Erfassungsgrenze: 300 µg.

d-Mannit. Die rötlichen Färbungen, die beim Erhitzen in ein durchaus uncharakteristisches Dunkelrotbraun übergehen, sind nur bei Anwesenheit geringer Mengen gut zu erkennen. Erfassungsgrenze etwa 10 µg.

Unterscheidung von Glykol und Glyzerin[13].

Eine Auswertung der in dieser Arbeit untersuchten Methoden ermöglicht es, im Rückstand eines Aether-Alkoholauszuges, den man beim üblichen Gang von Glyzerinanalysen erhält (oder eines entsprechenden Destillates), Glyzerin, Glykol oder beides aufzufinden.

A. Auf Grund der verschiedenen Erfassungsgrenzen. Als Beispiel sei die reduzierende Wirkung der mit Bromsoda behandelten Probe auf Fehlingsche Lösung gewählt. Der Anwendungsbereich ist allerdings sehr begrenzt, es läßt sich bei Glykol nur feststellen, ob Glykol allein oder ob eine Mischung zu gleichen Teilen mit Glyzerin vorliegt. Die Erfassungsgrenze bei Glyzerin ist 20 µg, die des Glykols 800 µg. Diese Differenz kann in der folgenden Weise zur Unterscheidung benützt werden, wobei beide Stoffe als im konzentrierten Zustand vorhanden angenommen werden.

Wenn man die Reaktion in der geschilderten Weise mit etwa 0,3 cmm (eine Oese voll) vornimmt, so weist ein positiver Ausfall auf Glyzerin hin, Glykol kann jedoch auch anwesend sein. Negativer Ausfall deutet die Abwesenheit von Glyzerin an, Glykol kann anwesend sein.

Liefern vier Oesen derselben Probe, die mit einer Oese keine Reaktion gab, nun ein positives Ergebnis, so ist Glykol vorhanden. Selbstverständlich darf die Probe vor der Behandlung mit Bromsoda keine reduzierenden Eigenschaften zeigen.

B. Mit Hilfe von Farbreaktionen. Der Unterschied der Reaktion mit β-Naphthol kann hier zur Unterscheidung vorteilhaft ausgenützt werden. Während Glyzerin nur einen dunkelgrünen Ring gibt, erhält man bei Glykol außer diesem eine violett-rote bis pfirsichblütenartige Färbung. Ist nur ein Stoff vorhanden, so ist er leicht nachzuweisen; mit Hilfe der Erfassungsgrenze kann sogar die quantitative Zusammensetzung der Probe abgeschätzt werden.

Liegt dagegen ein Gemisch der beiden Stoffe vor, so kann diese Farbenreaktion nur in beschränktem Maße Auskunft geben, da sich die Färbungen

[13] Vgl. dazu: H. Wolff, l. c.; C. Neuberg und J. A. Mandel, Ztschr. Ver. dtsch. Zuckerind. 1916, zitiert nach C. 1916, I. S. 439; H. Wolff, Der Seifenfabrikant, 40, Heft 17, S. 245 (1920).

überdecken. Voraussetzung sind gute Vertrautheit mit den Reaktionen und Ausführung von Kontrollversuchen mit Proben bekannter Zusammensetzung. Die verwendeten Mengen sollen unter 1 mg gehalten werden, damit man in der Nähe der Erfassungsgrenzen bleibt.

II. Reaktion nach M. Gläser und Th. Morawski[14].

Nach diesen Autoren entstehen bei der Oxydation des Glyzerins mit Bleidioxyd und Natronlauge Ameisensäure und Wasserstoff. Für den Wasserstoff konnte keine geeignete qualitative Nachweisreaktion gefunden werden. Immerhin gibt es Kriterien für seine Anwesenheit, nämlich den im Reaktionsgefäß entstehenden Druck und bei größeren Mengen die Brennbarkeit[15]. In bezug auf die Ameisensäure ist zu beachten, daß sie bei dieser Behandlung nicht nur aus Glyzerin usw., sondern auch aus anderen Stoffen entsteht.

Reagenzien: Eine Aufschlämmung M, bestehend aus 35 ccm 20%iger Natronlauge und 13 g Bleidioxyd, Phosphorsäure (d = 1,76), 1 : 1 verdünnt, Zeronitrat, Magnesiumoxyd in Pulverform, eventuell Bleidioxydrähte (Bleidioxyd wird aus salpetersaurer Lösung in Mengen von 1,5 bis 2 mg auf 3 bis 4 cm langen und 0,3 mm starken Platindrähten elektrolitisch niedergeschlagen und bei 150° C getrocknet).

Arbeitsweise: Etwa 1 mg des fraglichen Stoffes wird in ein 5 cm langes, birnenförmiges Kölbchen (etwa 7 mm unterer Durchmesser) gebracht und mit 35 cmm der Mischung M versetzt. Nach dem Vermischen wird das Kölbchen zugeschmolzen und 3 bis 5 Minuten in einem Anisoldampfbad (154° C)[16] erwärmt. Nach dem Abkühlen wird der zu einer Spitze ausgezogene Teil des Kölbchens in der Sparflamme des Bunsenbrenners aufblasen gelassen. Ist 1 mg Glyzerin vorhanden, so kann man den Wasserstoff noch an seiner Brennbarkeit und an dem (großen) Ueberdruck erkennen, bei geringeren Mengen nur an dem letzteren. Die über dem rotbraunen Bodensatz befindliche Flüssigkeit wird abgehebert und in die Kugel des Destillierapparates, Fig. 1, gebracht.

Dieser kann leicht aus einem Biegerohr von 3 bis 4 mm Innendurchmesser und 1 bis 2 mm Wandstärke hergestellt werden.

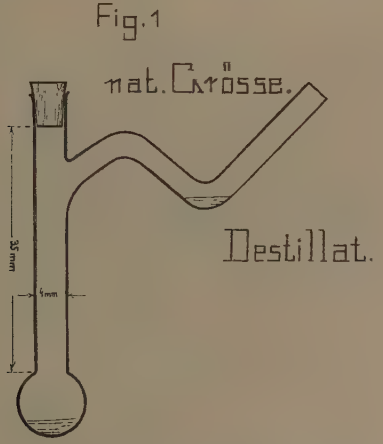
---

[14] M. Gläser und Th. Morawski, Monatsh. Chem. 10, S. 578 (1889).

[15] Der spektroskopische Nachweis wäre grundsätzlich leicht möglich, würde aber doch das Verfahren erheblich komplizierter gestalten.

[16] F. Emich, Mikrochem. Praktikum, S. 17.

Es werden einige Tröpfchen Wasser und die doppelte Menge Phosphorsäure (1 : 1) hinzugefügt. Der beschickte Destillationsapparat wird zum Beispiel in ein Glyzerinbad gebracht, das eine Temperatur von nicht über 130° C besitzt. In der (gekühlten) Vorlage befindet sich etwas MgO. Das Destillat wird bei 80° C auf dem Wasserbad mit dem MgO erwärmt, zentrifugiert, die klare Flüssigkeit mit einer Kapillare abgehebert und auf dem gedrittelten Objektträger zu einem kleinen Tropfen konzentriert[17]. Nach Zusatz eines Körnchens Zeronitrat wird die Probe



eine halbe Stunde beiseitegestellt. Bei Anwesenheit von Ameisensäure entstehen die charakteristischen „Pentagondodekaeder[18]“ oder die kugeligen Aggregate des Zeroformiates mit dem Polarisationskreuz.

Nach dieser Methode lassen sich 70 µg Glyzerin auffinden. Für geringere Mengen eignen sich die Bleidioxyddrähte, die eventuell in einer Kapillare anstatt im Kölbchen erhitzt werden.

Für Aethylenglykol und d-Mannit wurde die Erfassungsgrenze mit 200 µg gefunden. Bei der Destillation darf man die Temperatur von 130° C nicht überschreiten und außerdem darf keine stärker konzentrierte Phosphorsäure als oben angegeben genommen werden, da sich sonst die Ameisensäure zersetzt[19]. In einer Reihe unbekannter Proben konnten die Stoffe auf Grund ihrer Erfassungsgrenzen erkannt werden.

---

[17] Praktikum, S. 19.

[18] Behrens-Kley, Organ. mikrochem. Analyse, 2. Aufl., Leipzig 1922, S. 311 ff.

[19] J. B. Senderens glaubt an einen katalytischen Einfluß, Compt. rend. Acad. Sciences 184, S. 856 (1927).

III. Reaktion nach J. A. Rose[20].

Gewisse Polyalkohole bilden bekanntlich mit Borsäure Komplexsäuren von bedeutend größerer Azidität, ein Verhalten, das zum Nachweis der Borsäure verwendet wurde; in der vorliegenden Arbeit wird es umgekehrt zum Nachweis des Glyzerins benützt.

Setzt man zum Beispiel auf ein Stückchen mit Borsäure getränktes blaues Lackmuspapier ein Tröpfchen Glyzerin, so färbt sich das Reagenzpapier schon bei sehr geringen Glyzerinmengen rot.

Reagenzien: Kalt gesättigte Lösung von chemisch reiner, frisch umkristallisierter Borsäure, Kalziumkarbonat[20], rotes und blaues (empfindliches) Lackmuspapier, eventuell besonders hergestelltes Reagenzpapier.

Herstellung des Reagenzpapieres: Kalt gesättigte Borsäurelösung, die man auf das Zehnfache verdünnt hat, wird mit einer Spur Salzsäure versetzt, Kalziumkarbonat im Ueberschuß zugefügt und filtriert. Mit dieser Lösung wird das blaue Lackmuspapier getränkt und unter Ausschluß der meist sauren Laboratoriumsluft getrocknet. Sollte das Papier dennoch wieder rot werden — eine violette Färbung tritt des öfteren auf, verschwindet aber im feuchten Zustand, um der blauen Platz zu machen — so wird etwas 0,02n Natronlauge zugesetzt, welche die blaue Färbung wieder zustande bringt. Aus den mittleren Teilen des Reagenzpapieres werden kleine Dreiecke von 1 mm Basis und 3 mm Höhe ausgeschnitten, die unter möglichstem Ausschluß von Licht und Laboratoriumsluft aufzubewahren sind. Ihre Haltbarkeit ist nicht besonders groß.

Arbeitsweise: Ein Tröpfchen der Glyzerinlösung wird auf eines der Dreiecke, die sich auf einem Objektträger befinden, aufgesetzt. Zum Vergleich wird ein zweites Stückchen mit destilliertem Wasser benetzt, ebenso ein Stückchen rotes Lackmuspapier. Das mit Glyzerin befeuchtete Stückchen des blauen Papieres wird sich deutlich rot färben. Die folgende Uebersicht zeigt die Befunde bei abnehmenden Glyzerinmengen:

0,3 mg
0,03 mg } stark rot,
0,01 mg

[20] J. A. Rose, Beiträge zur Kenntnis der Borsäure usw. Dissertation, Erlangen 1902, zitiert nach Gmelin-Kraut-Friedheim, Handbuch der anorgan. Chemie 1, 3, S. 426 (1909).

0,006 mg ohne Vergleichsstück noch deutlich rot,
0,003 mg rot, mit Hilfe von Vergleichsstücken erkennbar,
0,001 mg keine Farbänderung feststellbar.

Das Reagenzpapier ist nicht an allen Stellen gleich empfindlich, aus diesem Grunde soll eine Wiederholung der Reaktion nicht unterlassen werden. Es muß natürlich auch geprüft werden, ob nicht das Probetröpfchen an und für sich schon sauer reagiert.

Erfassungsgrenze für Glyzerin 3 µg, für Aethylenglykol 20 µg, für d-Mannit etwa 0,6 µg[21].

F. Emich.

Die folgende Tabelle bringt eine Uebersicht über die von mir beobachteten Erfassungsgrenzen der drei behandelten Reaktionen.

Reaktion	Reagens	Erfassungsgrenzen in µg bei:		
		Glykol	Glyzerin	d-Mannit
I. E. Fischer und J. Tafel	Fehlings Lösung	800	20	90
	α-Naphthol	800 violett-rosa	20 violett	10 violett
	β-Naphthol	300 rötlich	60 grün	30 rötlich-gelb
	Salizylsäure	300 violett	6 violett	10 braun
II. M. Gläser und Th. Morawski	Zeronitrat	200	70	200
III. J. A. Rose	Mit H_3BO_3 getränktes Lackmuspapier	20	3	0,6

[21] Versuche mit anderen Indikatoren, Fadenfärbungen usw. sind geplant.

Neue Beiträge zur mikrochemischen Mineralanalyse.

(Zweite Serie.)

Von Ardoino Martini.

(Universidad Nacional del Litoral-Rosario de Santa Fe, Argentinien.)

A. Neue metallische Pyridin- und Chinolinkomplexe.

In verschiedenen meiner früheren Arbeiten, deren Inhalt in dem Buche „Die Fortschritte der Mikrochemie" von G. Klein und R. Strebinger (Wien)[1] wiedergegeben ist, habe ich die Technik beschrieben, um die verschiedenen Kationen (Co, Zn, Fe, V, Ti usw.) mittels der Bildung charakteristischer Mikrokristalle, je nach Umständen in Gegenwart von Pyridin oder Chinolinschwefelzyan, erkennen zu können. Außerdem beschrieb ich die für den guten Erfolg der betreffenden Reaktionen zu beobachtenden Regeln, auch wenn es sich um komplexe Ionenlösungen handelt. Den schon bekannten Reaktionen habe ich jetzt noch andere hinzuzufügen, die für die mikrochemische Feststellung des Co und des Cu anwendbar sind. Es sind dies die Methoden, die ich, wie folgt, beschreibe:

Kobalt. Einem Tropfen einer Kobaltlösung fügt man einen solchen von $SCN.NH_4$ (gesättigte Lösung) und dann einen Tropfen Pyridin hinzu. Es bildet sich unmittelbar ein rosafarbener Niederschlag. Man fügt dann verdünnte Salpetersäure (1 : 10) im Ueberschuß zu, und der Niederschlag nimmt dann eine himmelblaue Färbung und kristallinisches Aussehen an. Unter dem Polarisationsmikroskop zeigt sich der Niederschlag in Form zahlreicher blauer monokliner Prismen, die mit äußerster Schnelligkeit an Größe zunehmen und eine starke Kristallisationskraft erkennen lassen. (Tafel I, Fig. 1.)

Die Reaktion tritt mit äußerster Deutlichkeit in Lösungen von 1% beziehungsweise 1‰ ein, und die Empfindlichkeit des Reagens erlangt $^1/_{100}$ Mikrogramm. Die kristallographischen Merkmale des in Rede stehenden Komplexes entsprechen denen des Schwefelzyanürkobaltpyridins, wie in der „Chemischen Kristallographie" von Groth (5. Band, Seite 660) angegeben. Es kommt dem Komplex also die Formel

$$(C_5H_5N.HS.CN)_3.Co(SCN)_2$$

zu.

---

[1] Verlag Deuticke, Wien. Beitrag A. Benedetti-Pichler.

Kupfer. Einem Tropfen einer Kupferlösung fügt man zuerst Ammoniak im Ueberschuß bis zur Bildung eines komplexen Ions $Cu(NH_3)_4$, dann einen Tropfen $SCN.NH_4$ (gesättigte Lösung) und endlich Pyridin im Ueberschuß zu. Es sondert sich schnell, an den Rändern anfangend, ein grünfarbiger Kristallniederschlag ab, der unter dem Mikroskop die in der Fig. 2 wiedergegebenen charakteristischen Formen erkennen läßt. Empfindlichkeit, Kristallisationsfähigkeit usw. sind dieselben wie bei der vorigen Reaktion. Die wahrscheinliche Formel des neuen Komplexes ist folgende:

$$(C_5H_5N.HS.CN)_3.Cu(NH_3)_4(S.CN)_2$$

Wenn man dieselbe Reaktion bis einschließlich der Zugabe von $SCN.NH_4$ (gesättigte Lösung) wiederholt und dann Chinolinsulfat im Ueberschuß hinzufügt, erhält man einen grünen Niederschlag, der nach Beobachtung unter dem Polarisationsmikroskop von einer Menge charakteristischer monokliner Kristalle gebildet wird. Die Formel dieses neuen Komplexes ist mit aller Wahrscheinlichkeit folgende:

$$(C_9H_6N.HS.CN)_3.Cu(NH_3)_4(S.CN)_2$$

Bei den beiden oben beschriebenen Reaktionen bilden sich zusammen mit den Kristallen der Pyridin- und Chinolinkomplexe auch einige vereinzelte oder in Sternen angeordnete Prismen von bläulichweißer Farbe, welche aus Kupferammonschwefelzyanür sind.

B. Metallische Phenylaminkomplexe.

In dem ersten Band der „Molekularphysik" von O. Lehmann werden einige Verbindungen des Anilins mit den Chloriden des Co, Ni, Cu und Mn erwähnt, die Anlaß geben zu der Bildung von Kügelchen oder hexonalen beziehungsweise quadratischen blattartigen Scheiben von blauer, blaßgrüner, gelber beziehungsweise hellvioletter Farbe. Einige von ihnen sind der Liste der mikrochemischen Methoden, um die hauptsächlichen Kationen und Anionen zu erkennen, einverleibt und sind in den Tafeln enthalten, die zu dem „Lehrbuch der Mikrochemie" von Emich gehören (2. Auflage). Aber alle diese scheinen sowohl infolge ihrer Spezifität als auch ihrer Empfindlichkeit geringen mikrochemischen Wert zu haben. Das ist im Gegenteil nicht der Fall bei den neuen Komplexen, die ich weiter unten beschreibe und die man mit Vorteil bei der Erkennung der folgenden Kationen Zn, Cu, Co, Cd und Ni gebrauchen kann.

Zink. Einem Tropfen einer 1%igen Lösung von SO_4Zn fügt man einen anderen von reinem Anilin und dann verdünnte HCl (1 : 10) in geringem Ueberschuß zu und rührt das Ganze mit einem Glasstäbchen

um. Es bleiben auf dem Objektträger, auf dem man die Reaktion vornimmt, einige weiße Streifen, die nach der Beobachtung unter dem Polarisationsmikroskop von zahlreichen triklinen, farblosen Prismen gebildet sind. Ihre wahrscheinliche Formel ist folgende:

$$C_6H_5 . NH_2 . HCl . ZnCl_2$$

Kupfer. Wenn man einer 1%igen Lösung von Cl_2Cu Ammoniak im Ueberschuß bis zur Bildung eines komplexen Ions $Cu(NH_3)_4$, dann einen Tropfen Anilin und darauf $SCN . NH_4$ (gesättigte Lösung) im Ueberschuß zugibt, so bildet sich in kurzer Zeit ein grüner, kristallinischer Niederschlag. (Tafel I, Fig. 3.)

Bei der Beobachtung unter dem Mikroskop erkennt man, daß er aus zahlreichen grünen Kristallen besteht, die vereinzelt oder in Rosetten angeordnet vorkommen, Ihre optischen, unter dem Polarisationsmikroskop festgestellten Eigenschaften sind folgende: deutlicher Dichroismus, schräge Extinktion, deren Winkel 45° ist. Der Niederschlag gehört infolgedessen zum triklinen System, und seine wahrscheinliche Formel ist folgende:

$$(C_6H_5NH_2 . HSCN)_2 . Cu(NH_3)_4 (SCN)_2$$

Kobalt. Einem Tropfen einer 1%igen Lösung von $Co(NO_3)_2$ fügt man einen solchen reinen Anilins und darauf $SCN . NH_2$ (gesättigte Lösung) im Ueberschuß zu. Man erhält einen kristallinischen rosafarbenen Niederschlag. Unter dem Polarisationsmikroskop beobachtet, zeigt er dieselben kristallographischen Merkmale wie der vorige. Die rosafarbenen Kristalle sind also trikline Prismen. (Tafel II, Fig. 4.)

Kadmium. Man wiederholt mit einem Tropfen einer Cl_2Cd-Lösung die weiter oben zum Nachweis des Cu-Kations beschriebene Reaktion, und man erhält einen weißen, kristallinischen Niederschlag. Die Untersuchung unter dem Mikroskop ergibt als Resultat: monokline, farblose Prismen. Ihre wahrscheinliche Formel ist folgende:

$$(C_6H_5 . NH_2 . HSCN)_2 . Cd(NH_3)_4 (SCN)_2$$

Nickel. Wenn man die gleiche Technik und dieselben Reagentien wie im vorigen Falle gebraucht, so erhält man mit einer 1%igen Lösung dieses Metalls einen kristallinischen Niederschlag von grünlicher Farbe. Unter dem Polarisationsmikroskop zeigt er die folgenden Merkmale: lilafarbene, stark lichtbrechende Prismen, schräge Extinktion, deren Winkel in verschiedenen Kristallen in der Gegend um 35° schwankt. (Tafel II, Fig. 5.)

Die Prismen gehören also zum triklinen System, und ihre wahrscheinliche Formel ist folgende:

$$(C_6H_5 . NH_2 . H . SCN)_4 . Ni(NH_3)_4 (SCN)_2$$

Ueber Mikrobestimmung der Kohlehydrate in tierischen Organen und im Blute mit Hilfe charakteristischer Farbreaktionen.

Von Zacharias Dische.

(Aus der physiologisch-chemischen Abteilung im Physiologischen Institut der Universität Wien.)

I. Mitteilung.

Ueber einige Farbreaktionen der Kohlehydrate und ihre Verwendung zur Mikrobestimmung verschiedener Zucker, die sich nebeneinander in Lösung befinden.

Inhaltsverzeichnis:

A. Einleitung und Kritik der bisherigen Verfahren zur kolorimetrischen Bestimmung des Zuckers.
B. Beschreibung einiger Farbreaktionen der Kohlehydrate:
1. Reaktionen der Zucker mit Naphthol und Schwefelsäure:
a) Naphtholreaktion I,
b) Naphtholreaktion II.
2. Reaktionen der Zucker mit Diphenylamin und Salzsäure.
3. Reaktionen der Zucker mit Indol und Schwefelsäure nach Dische-Popper.
4. Reaktionen der Zucker mit Phlorogluzin und Schwefelsäure.
C. Uebersicht und Erörterung der Ergebnisse.
D. Bestimmung verschiedener Zucker neben Glukose in reinen Lösungen.
E. Beleganalysen.

A. Einleitung und Kritik der bisherigen Verfahren zur kolorimetrischen Bestimmung des Zuckers.

Es ist schon seit langer Zeit in der biochemischen Forschung als ein Uebelstand empfunden worden, daß die gebräuchlichsten Methoden zur quantitativen Bestimmung der Zucker fast insgesamt auf den reduzierenden Eigenschaften dieser Körper basieren. Ist doch die Reduktionsfähigkeit keine den Zuckern eigentümliche Eigenschaft, vielmehr besitzen viele in den Organismen vorkommende Substanzen die Fähigkeit, zu reduzieren, wenn auch meistens in geringerem Maße als die Zucker. Aus diesem Grunde war man oft gezwungen, die Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von Zuckern in Organen und Körperflüssigkeiten durch Methoden zu kontrollieren, die auf anderen Eigenschaften der Zucker beruhen, so insbesondere die Fähigkeit, die Ebene

des polarisierten Lichtes zu drehen und von der Hefe vergoren zu werden. Den letzteren beiden Methoden ist der Uebelstand gemeinsam, daß ihre Anwendung auf stark verdünnte Lösungen umständlich ist; die auf der Polarisation des Lichtes beruhenden Methoden haben außerdem den Nachteil, daß die Eigenschaft, die Ebene des polarisierten Lichtes zu drehen, ebensowenig den Zuckern eigentümlich ist wie das Reduktionsvermögen. Besonders dort, wo Zucker neben Eiweißabbauprodukten sich in Lösung befinden, begegnet die Bestimmung der Zucker oft unüberwindlichen Schwierigkeiten. Es sind deshalb schon vor vielen Jahren Versuche gemacht worden, die Zucker, besonders für klinische Zwecke, nach Methoden zu bestimmen, die auf gewissen, dieser Körperklasse eigentümlichen Farbreaktionen beruhen.

Schon im Jahre 1910 haben Reicher und Stein[1] versucht, die Molischsche Reaktion zur Bestimmung des Blutzuckers heranzuziehen; gleichzeitig hat Leonhard Wacker[2] eine kolorimetrische Methode der Zuckerbestimmung ausgearbeitet, die auf der roten Farbreaktion der Kohlehydrate mit p-Phenylhydrazinsulfosäure in alkalischer Lösung beruht. Forschbach und Severin[3] haben diese Methoden einer Nachprüfung unterzogen und sie als unverläßlich abgelehnt.

In neuerer Zeit hat B. Glasmann[4] eine kolorimetrische Methode der Blutzuckerbestimmung veröffentlicht. Dieser dient zur Grundlage die braune Farbreaktion der Kohlehydrate mit Resorzin und Salzsäure in der Hitze. Der Verfasser hat diese Methode einer eingehenden Prüfung unterzogen und sie zur Bestimmung des Blutzuckers ganz unzureichend gefunden. Denn, abgesehen von der großen Umständlichkeit des Verfahrens (die Reaktionsflüssigkeit darf während der kolorimetrischen Bestimmung nicht unter 60° abgekühlt werden, was die Verwendung eines besonderen Kolorimeters erfordert), ist die Methode deswegen unbrauchbar, weil im Blute neben Glukose, wenn auch nur in geringer Menge, noch andere Kohlehydrate, zum Teil unbekannter Konstitution, sich befinden. Diese reagieren nun mit Resorzin und Salzsäurelösung in viel stärkerem Grad als die Glukose, so daß, wenn es nicht gelingt, diese Kohlehydrate von der Glukose zu trennen, die für deren Konzentration im Blut und Plasma erhaltenen Werte viel zu hoch werden. Dasselbe Verhalten gegenüber der Resorzin-Salzsäurereaktion zeigen die kolloidalen Kohlehydrate des normalen Harnes, so daß auch deren Bestimmung nach Glasmann zu ganz falschen Werten führen muß. Dem Verfasser ist es übrigens auch nicht gelungen, trotzdem er sich genau an die Vorschriften von Glasmann gehalten hat, eine ausreichende Proportionalität zwischen der Konzentration der Zucker-

lösungen und der mit ihnen zu erzielenden Farbintensität bei der Resorzin-Salzsäurereaktion festzustellen.

Vor etwa zwei Jahren hat der Verfasser[5] zusammen mit Hans Popper eine kolorimetrische Methode zur Bestimmung der Kohlehydrate in Organen und im Blut ausgearbeitet. Diese basiert auf der Eigenschaft aller Kohlehydrate, beim Erhitzen mit Indol und Schwefelsäure bestimmter Konzentration einen braunen Farbstoff zu liefern. Diese Methode scheint von den Fehlern der bisher besprochenen frei zu sein und für die Bestimmung der Gesamtkohlehydrate in den tierischen Organen sowie im Blute, wenigstens soweit keine besonderen Verhältnisse in Betracht kommen, geeignet zu sein. In gewissen Fällen jedoch, in denen wir über die Zusammensetzung des zu untersuchenden Substrates nicht ganz im klaren sind, könnte sich ein Nachteil dieser Methode, der mit der nicht genügenden Spezifität der Indol-Schwefelsäurereaktion zusammenhängt, bemerkbar machen. Denn außer den Kohlehydraten zeigen noch viele andere organische Substanzen eine Braunfärbung, wenn sie mit Indol und Schwefelsäure erhitzt werden, wenn auch diese Braunfärbung im Falle der Kohlehydrate viel intensiver ist. Es könnte also irgend eine Substanz, von deren Existenz in einem dem tierischen Körper entstammenden Substrat wir nichts wissen, zu groben Täuschungen Anlaß geben, wenn sie in größerer Konzentration auftritt. Es erschien deshalb ratsam, noch andere Farbreaktionen der Kohlehydrate daraufhin zu untersuchen, ob sie eine brauchbare Grundlage für eine einfache und verläßliche Methode der Kohlehydratebestimmung in Organen abzugeben geeignet sind, ohne gleichzeitig mit dem Uebelstand der mangelhaften Spezifität behaftet zu sein.

Aber noch ein zweiter Gesichtspunkt sollte bei dieser Untersuchung im Auge behalten werden. Als der Verfasser mit dem an die Eiweißkörper des Blutplasmas gebundenen Zucker verschiedene Kohlehydratreaktionen ausführte und die dabei auftretenden Färbungen mit einer Glukosestandardlösung auf ihre Intensität hin verglich, bemerkte er, daß bei diesem Vergleich sich ganz verschiedene Werte ergaben, je nachdem, welche Farbreaktion angesetzt worden ist. Der an die Bluteiweißkörper gebundene Zucker ist als Mannose identifiziert worden. Diese verhält sich eben bei verschiedenen Farbreaktionen der Kohlehydrate ganz verschieden von der Glukose, indem sie einige von ihnen in stärkerem Grade aufweist als die Glukose, andere wiederum in schwächerem Grade. Es zeigte sich nun, daß dies nicht nur eine Eigenschaft der Mannose, sondern so gut wie jeden Zuckers ist, und daß die Farbintensität, die eine Lösung eines Zuckers von einer bestimmten

Konzentration bei den verschiedenen Farbreaktionen der Kohlehydrate aufweist, eine für jeden Zucker ziemlich charakteristische Größe repräsentiert. Selbst geringe Verschiedenheiten in der Struktur eines Zuckers, wie zum Beispiel die verschiedene Lage der Sauerstoffbrücke, bedingen oft große Unterschiede der Farbintensität bei manchen Reaktionen. So reagiert die im Saccharosemolekül enthaltene Fruktose bei manchen Farbreaktionen beträchtlich stärker als die gewöhnliche Fruktose. Diese Erscheinung versprach für das Problem des Nachweises und Bestimmung verschiedener Zucker im Gemenge nebeneinander von Bedeutung zu werden.

Die Lösung dieser Frage mußte aber von besonderem Interesse erscheinen, da wir ja wissen, daß wir es bei den Kohlehydraten sowohl des Blutes wie der Organe mit Gemengen vieler verschiedener Zucker zu tun haben. So gibt es im Blute neben der Glukose, also dem eigentlichen Blutzucker, im freien Zustande noch Laktose und einen anderen, pentosenähnlichen Zucker (nach Best). Außerdem enthalten die Eiweißkörper des Blutplasmas, wie der Verfasser kürzlich nachgewiesen hat, in gebundener Form Mannose, endlich findet man nach Angaben verschiedener Autoren in beträchtlicher Menge Adenin- und Hypoxanthinnukleotide, die ja ein Kohlehydrat (wahrscheinlich Pentose) enthalten. In den Organen wieder haben wir neben freiem Zucker und Glykogen ebenfalls an Nukleinsäuren und an Eiweißkörper gebundenen Zucker. Ueber die Rolle all dieser Zucker in dem Kohlehydratstoffwechsel sind wir nicht genügend orientiert; auch wurden bei den bisherigen Untersuchungen der Gesamtkohlehydrate der Organe die verschiedenen Fraktionen derselben nicht genügend auseinandergehalten. Aus diesem Grunde wurde bei der vorliegenden Untersuchung der einzelnen Kohlehydratfarbreaktionen neben der Spezifität auch dem Umstand besondere Aufmerksamkeit geschenkt, wie groß die Unterschiede sind, die die einzelnen Zucker in ihrem Verhalten bei der betreffenden Reaktion aufweisen. Der Verfasser hat eine große Anzahl verschiedener Farbreaktionen der Kohlehydrate untersucht, und zwar solche mit Naphthol, Kampher, Thymol, Phenol, Tiophen, Indol, Diphenylamin, Phlorogluzin, Resorzin, Hydrochinon, Veratrol und Schwefelsäure resp. Salzsäure. Von all diesen Reaktionen sind es vier, die sich dadurch auszeichnen, daß sie entweder den Kohlehydraten besonders eigentümlich sind oder, wenn dies auch nicht der Fall ist, die Unterschiede in der Reaktion verschiedener Zuckerarten derart groß sind, daß diese Reaktionen in besonderem Maße zur Bestimmung verschiedener Zucker im Gemenge miteinander geeignet erscheinen. Diese vier Reaktionen sind:

1. Reaktion mit α-Naphthol und Schwefelsäure in zwei verschiedenen Formen.
2. Reaktion mit Diphenylamin und Salzsäure plus Eisessig, ebenfalls in zwei Formen.
3. Reaktion mit Indol und Schwefelsäure.
4. Reaktion mit Phlorogluzin und Schwefelsäure.

B. Beschreibung einiger Farbreaktionen der Kohlehydrate.

Im nachfolgenden werden diese Reaktionen so beschrieben werden, daß zunächst immer die optimalen Bedingungen in bezug auf die den Verlauf der Reaktion beeinflussenden Faktoren, dann die Abhängigkeit der Farbe von der Zuckerkonzentration und der Zuckerart und endlich die Spezifität der Reaktion dargestellt werden.

1. Reaktion der Kohlehydrate mit α-Naphthol und Schwefelsäure.

a) Naphtholreaktion I.

Nach Molisch wird diese Reaktion bekanntlich so ausgeführt, daß zu 1 ccm der Lösung 2 bis 3 Tropfen einer 10%igen alkoholischen Naphthollösung und dann unter Kühlung 2 ccm konzentrierte Schwefelsäure hinzugefügt werden. Die Reaktion läuft in zwei Phasen ab; unter der Wirkung der beim Vermischen der Schwefelsäure mit Wasser entstehenden Wärme wird zunächst der Zucker zersetzt und die dabei enstehenden Körper reagieren mit dem Naphthol unter Bildung eines violetten bis rotvioletten Farbstoffes. Während für die erste Phase der Reaktion die Reaktionswärme unbedingt notwendig ist, ist es bei der zweiten Phase nicht der Fall, vielmehr behindert zu starke Wärme die Bildung des Farbstoffes.

Wie Forschbach und Severin[3] gezeigt haben, eignet sich die Reaktion mit Naphthol in der von Molisch angegebenen Form nicht zur quantitativen Bestimmung der Zucker, denn offenbar hängt die Intensität der Farbreaktion von dem Grade und der Dauer der Wärmeeinwirkung ab; da die Wärme hier durch Vermischen der Reagentien entsteht, ist es meist unmöglich, die Erwärmung verschiedener zu vergleichender Proben ganz gleich zu gestalten, denn es spielen so schwer kontrollierbare Umstände mit hinein, wie die Geschwindigkeit des Vermischens und die Ableitung der Wärme vom Reaktionsgefäß. Deshalb zeigen oft zwei verschiedene Proben gleicher Zuckerkonzentration Farbwerte, die sich merklich voneinander unterscheiden.

Will man also die Reaktion der Zucker mit α-Naphthol und Schwefelsäure zu kolorimetrischen Bestimmungen verwenden, so muß man die

Reaktion derart ausführen, daß die in der ersten Phase notwendige Erwärmung in verschiedenen miteinander zu vergleichenden Proben vollkommen gleich ist. Dies gelingt leicht auf folgende Weise: Bei der Reaktion nach Molisch enthält das Gemenge zum Schluß zwei Drittel Volumina Schwefelsäure und ein Drittel Volumina Wasser. Zu derselben Schlußkonzentration der Schwefelsäure gelangt man aber auch, wenn man statt zum Beispiel 2 ccm Zuckerlösung mit 4 ccm konzentrierter Schwefelsäure nur 1 ccm Zuckerlösung mit 5 ccm einer Schwefelsäure vermischt, die im Verhältnis von 4 Teilen Schwefelsäure zu 1 Teil Wasser verdünnt worden ist. Nur wird bei dieser Art des Vermischens der Reagentien die Reaktionswärme sehr viel geringer sein, so daß bei entsprechender Kühlung die Umwandlung des Zuckers in den mit Naphthol reagierenden Körper entweder gar nicht oder nur in geringem Maße stattfinden würde. Die für das Zustandekommen der Reaktion nötige Erwärmung könnte dadurch zustande gebracht werden, daß man das Reaktionsgemenge durch einige Minuten im siedenden Wasserbade erhitzt. Auf diese Weise wäre man in der Lage, die Erwärmung auch bei mehreren Proben vollkommen gleichmäßig zu bewerkstelligen. Die auf Grund dieser Ueberlegung ausgeführten Versuche zeigten tatsächlich, daß dieser Weg zum Ziele führt. Es zeigte sich dabei von Vorteil, zuerst das Vermischen von Schwefelsäure und Zuckerlösung und Erwärmen im Wasserbade auszuführen und erst nachher, nach Abkühlung des Reaktionsgemenges, die alkoholische Naphthollösung hinzuzufügen; die Reaktion ist in diesem Falle sehr intensiv, nur tritt die Färbung nicht momentan auf, wie bei der Ausführung nach Molisch, sondern erst nach einiger Zeit, um noch stundenlang immer stärker zu werden. Ein Erwärmen der Reaktionsflüssigkeit nach Hinzufügung des Naphthols beeinflußt sowohl die Intensität als auch die Reinheit der auftretenden Farbe ungünstig. Nachdem so die prinzipielle Möglichkeit eines solchen Verfahrens gegeben war, wurde die so modifizierte Molischsche Reaktion auf die für die kolorimetrische Zuckerbestimmung optimalen Bedingungen näher untersucht.

α) Einfluß der Konzentration der Säure und des Naphthols sowie der Dauer des Erhitzens auf die Intensität der Naphtholreaktion.

Bei der Wahl der für den Verlauf der Reaktion günstigsten Säurekonzentration mußten zwei Gesichtspunkte im Auge behalten werden. Einerseits sollte die Verdünnung der Säure so stark sein als möglich, damit die beim Vermischen der Säure mit der Zuckerlösung entstehende

Wärme eine möglichst geringe Zersetzung des Zuckers bewirke, anderseits durfte die Verdünnung der Säure nicht zu groß werden, damit die Intensität der Farbreaktion darunter nicht zu sehr leide. Es zeigte sich, daß diesen beiden Forderungen am besten Genüge geleistet werden kann, wenn auf 1 Teil Zuckerlösung 9 Teile einer Schwefelsäure kommen, die vorher im Verhältnis 8 Teile konzentrierter Schwefelsäure zu 1 Teil Wasser verdünnt worden ist. Das Vermischen muß unter Kühlung durch Eintauchen ins Wasser erfolgen. Wird unter diesen Umständen zu 10 ccm des durch Eintauchen in Wasser abgekühlten Reaktionsgemenges 0,2 ccm einer 5%igen alkoholischen Naphthollösung hinzugefügt, so tritt zwar bei genügender Konzentration der Zuckerlösung eine Farbreaktion ein, aber diese Reaktion ist sehr gering, wenn man sie mit derjenigen vergleicht, die stattfindet, wenn man die Reaktionsflüssigkeit vor Hinzufügen der Naphthollösung durch einige Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt. Die durch das ungleichmäßige Erwärmen beim Zusammengießen der Reaktionsflüssigkeit in verschiedenen Proben derselben Zuckerlösung bedingten Schwankungen der Farbintensität werden deshalb nur einen minimalen Bruchteil der nach Erwärmung in siedendem Wasserbade des Reaktionsgemenges erzielbaren Gesamtfärbung ausmachen. Wollte man mit der Konzentration der Schwefelsäure noch weiter heruntergehen, so würde darunter die Empfindlichkeit der Reaktion leiden, da die Intensität der auftretenden Färbung der Konzentration der Säure parallel abnimmt.

Was den Einfluß der Dauer des Erhitzens anbetrifft, so muß man, um das Maximum der Färbung zu erzielen, die Proben mindestens durch zwei und höchstens durch vier Minuten im siedenden Wasserbade belassen. Wird länger erhitzt, so nimmt die Intensität der Färbung ab und es tritt eine bräunliche Verfärbung auf.

Was endlich die Menge und Konzentration der hinzuzufügenden alkoholischen α-Naphthollösung anbelangt, so zeigten die angestellten Versuche, daß man zu einem Maximum der Färbung gelangt, wenn man zu 1 ccm Zuckerlösung und 9 ccm Schwefelsäure 0,1 bis 0,2 ccm einer 5%igen alkoholischen α-Naphthollösung hinzufügt. Nimmt man mehr Naphthollösung, so wird die Intensität der Farbreaktion nicht vermehrt, wohl aber kommt die rote Komponente der Farbe stärker zur Geltung, denn das Naphthol ruft schon an und für sich bei Hinzufügung zu Schwefelsäure eine braune Farbe hervor, die natürlich um so stärker ist, je größer die Konzentration des Naphthols. Die Beimischung dieser braunen Farbe zu der durch die Reaktion der Kohlehydrate hervor-

gerufenen violetten bewirkt, wenigstens zum Teil, den roten Ton der Molisch-Reaktion. Wird auf 10 ccm Reaktionsflüssigkeit weniger als 0,1 ccm der alkoholischen Naphthollösung hinzugefügt, so geht die Intensität der Farbreaktion zuerst langsam, dann sehr rasch mit der Abnahme der Naphtholkonzentration zurück.

Bei allen späteren Versuchen wurde also die soeben beschriebene Reaktion mit Naphthol und Schwefelsäure, die von nun an zum Unterschied von einer später zu beschreibenden Naphthol-Schwefelsäure-Reaktion der Kohlehydrate als Naphtholreaktion I bezeichnet werden wird, in der Weise angesetzt, daß zu 1 ccm einer wässrigen Zuckerlösung unter Kühlung im Wasser 9 ccm einer Schwefelsäure, die durch Vermischen von 8 Teilen konzentrierter Schwefelsäure (spezifisches Gewicht 1,84), mit 1 Teil destillierten Wassers erhalten wurde, hinzugefügt, nach Umschütteln und Abkühlung für 3 Minuten in kochendes Wasserbad hineingestellt, abgekühlt und 0,2 ccm einer 5%igen alkoholischen α-Naphthollösung dazugegeben und umgeschüttelt wurde.

β) Proportionalität zwischen Farbintensität und Zuckerkonzentration bei der Naphtholreaktion I.

Beim Vergleich von Zuckerlösungen verschiedener Konzentration miteinander muß darauf geachtet werden, daß die Entwicklung der Farbe bei der Naphtholreaktion I eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt und mit der Zeit die Farbe immer stärker wird. Fügt man zu einer Reihe von Proben die Naphthollösung nacheinander hinzu, so werden zu Anfang diejenigen Proben, in die das Naphthol zuerst gelangte, den anderen gegenüber stärker erscheinen, als es ihrer Konzentration nach der Fall sein sollte. Wartet man aber eine genügend lange Zeit ab, bis die Farbe der Proben genügend stark geworden ist, so machen sich diese Abweichungen nicht mehr nennenswert geltend, besonders wenn man zu jeder Probe die Naphthollösung zunächst nur zufließen läßt und nicht umschüttelt, bis nicht alle Proben mit Naphthol versetzt worden sind. In diesem Falle kann man schon nach Ablauf von 10 Minuten den Vergleich der Proben, auch bei einer größeren Anzahl derselben, ausführen. Werden nun zwei Zuckerlösungen, deren Konzentration sich um etwa 50% voneinander unterscheidet, in dem gewöhnlichen Dubosque-Kolorimeter miteinander verglichen, so zeigt sich, daß erstens die Farbqualität nicht ganz gleich erscheint in dem Sinne, daß die schwächere Lösung beim Einstellen auf gleiche Helligkeit immer einen etwas röteren Ton aufweist und zweitens dieselbe Lösung auch eine etwas größere Farbintensität zeigt, als ihrer Konzentration entspräche. Dies ist auf

folgenden Umstand zurückzuführen: Das Naphthol an und für sich gibt mit Schwefelsäure eine braune Farbe, die sich offenbar zu der vom Zucker stammenden rotvioletten Farbe addiert. Diese Komponente der Farbreaktion ist nun von der Zuckerkonzentration natürlich unabhängig und daraus erklärt sich ohne weiteres, daß, je schwächer die Zuckerlösung ist, sie um so mehr beim Vergleich mit einer stärkeren konzentrierten Lösung eine verhältnismäßig zu intensive Farbe zeigen wird.

Um dieser Schwierigkeit zu begegnen, darf man bei der Naphtholreaktion I den kolorimetrischen Vergleich nicht direkt im Dubosque-Kolorimeter vornehmen, sondern sich des Verfahrens bedienen, das der Verfasser früher in einer zusammen mit D. Laszlo[6] veröffentlichten Arbeit über die kolorimetrische Bestimmung der Milchsäure beschrieben hat: beim kolorimetrischen Vergleich mehrerer Zuckerlösungen wird gleichzeitig eine Probe statt mit Zuckerlösung mit reinem destilliertem Wasser, jedoch sonst auf genau dieselbe Art und Weise angesetzt. Der Vergleich verschiedener Reaktionsgemische miteinander erfolgt nun derart, daß man von der jeweils stärkeren Lösung ein bestimmtes Volumen in eine Eprouvette abmißt, die schwächere Lösung in eine andere Eprouvette von demselben Durchmesser eingießt und aus einer graduierten Pipette zu der stärkeren Lösung so viel von der Leerprobe tropfenweise hinzufügt, bis beim Vergleich im Walpoleschen Komparator die beiden Proben gleich erscheinen. Zur genaueren Ablesung kann man die Proben noch im Kolorimeter vergleichen. Die Eigenfarbe des Naphthols macht sich jetzt nicht mehr in nennenswertem Maße geltend, denn bei der Verdünnung hat ja nur die auf den Zucker zurückzuführende Färbung eine Abschwächung erfahren, die störende Naphtholeigenfärbung, die ja in beiden Proben dieselbe ist, hat bei der Verdünnung keine Veränderung erfahren. Bezeichnet man mit a das abgemessene Volumen der stärkeren Lösung, mit b das der hinzugefügten Flüssigkeit aus der Leerprobe, so verhält sich die Konzentration der stärkeren Lösung zu derjenigen der schwächeren wie a plus b zu a.

Es hat sich nun ergeben, daß, wenn man auf diese Weise verfährt, die Intensität der Farbreaktion bei der Naphtholreaktion I der Konzentration der Zuckerlösung vollkommen proportional ist. Es wurden Glukose- und Mannoselösungen, deren Konzentration zwischen 0,001 und 0,01 schwankte, miteinander verglichen. In diesem Konzentrationsbereich ist der Vergleich am genauesten zu bewerkstelligen, bei konzentrierteren Lösungen der Glukose ist die Farbe so stark, daß die Genauigkeit der Ablesungen darunter leidet. Läßt man die Reaktionsflüssigkeit stunden-

lang stehen, so wird, wie schon bemerkt, die Farbe absolut immer stärker, das Verhältnis aber der Farben bei verschiedenen Proben wird davon nicht berührt. Die alkoholische Naphthollösung darf jedoch nicht zu alt sein, da sonst nach längerem Stehen sich Trübungen bilden, die den kolorimetrischen Vergleich unmöglich machen. Man muß deshalb die alkoholische Naphthollösung jede Woche etwa frisch bereiten und sie in dunklen Gefäßen aufbewahren.

γ) Die Spezifität der Naphtholreaktion I.

Alle Hexosen verhalten sich bei der Naphtholreaktion I in bezug auf die Farbqualität gleich. Die Pentosen und die Glukuronsäure zeigen ebenfalls eine sehr intensiv rotviolette Farbe, wobei gegenüber der Farbe bei Hexosen das Rot stärker zur Geltung kommt, besonders bei der Glukuronsäure. Das in den tierischen Nukleinsäuren enthaltene Kohlehydrat dagegen zeigt die Reaktion nur in äußerst schwachem Grade, etwa nur 1,7% desjenigen Wertes, den es zeigen müßte, wenn es wie Glukose reagierte. Glyzerinaldehyd, Dioxyazeton (Oxanthin), Glykolaldehyd zeigen dagegen die Reaktion überhaupt nicht. Sie geben vielmehr eine rein braune Farbe, wie es bei allen anderen Aldehyden sowie solchen Stoffen, aus denen durch Zusammengießen von Schwefelsäure und ihrer Lösung ein Aldehyd entsteht, wie zum Beispiel Milchsäure, der Fall ist.

Nun hat Neuberg[8] seinerzeit gezeigt, daß die Molischsche Reaktion nicht nur die Hexosen und Pentosen, sondern auch die niedrigeren Kohlehydrate, also Triosen usw., zeigen. Die Reaktion dieser niedrigen Kohlehydrate hängt also offenbar sehr von der Art ab, wie man die Schwefelsäure mit ihrer Lösung vermischt und in welchem Mengenverhältnis dies geschieht. Eine nähere Untersuchung zeigte ferner, daß es auch für die Reaktion der niedrigen Kohlehydrate und des Kohlehydrates der tierischen Nukleinsäure von Bedeutung ist, ob das Naphthol beim Ansetzen der Reaktion vor der Schwefelsäure hinzugefügt wird oder nachher nach Abkühlung des Reaktionsgemisches. Werden zum Beispiel zu 1 ccm einer Lösung von Glyzerinaldehyd oder Dioxyazeton 4 ccm konzentrierte Schwefelsäure ohne Kühlung hinzugefügt, das Gemenge dann bis zur Abkühlung stehen gelassen und nachher einige Tropfen einer 10%igen alkoholischen Naphthollösung hinzugefügt, so zeigt sich eine charakteristische grüne Farbe, die beim Erwärmen in Braun umschlägt. Werden aber statt 4 ccm Schwefelsäure 8 ccm hinzugefügt, so erscheint von vornherein die braune Farbe. Der Glykolaldehyd zeigt bei jedem Verhältnis von Lösung und Schwefelsäure nur die braune Farbe, während die Hexosen und die Glukuron-

säure die gewöhnliche rote Farbe aufweisen. Ganz anders werden die Erscheinungen, wenn vor Zusatz der Schwefelsäure Naphthol zur Zuckerlösung hinzugefügt wird. Bei Zusatz von 4 ccm Schwefelsäure zeigt der Glykolaldehyd eine prachtvolle blaugrüne Farbe, die Triosen aber die rote Farbe der Molisch-Reaktion; werden dagegen statt 4 ccm 8 ccm Schwefelsäure hinzugefügt, so zeigen sowohl der Glykolaldehyd wie auch die Triosen dieselbe rote Farbe der Molisch-Reaktion, das Kohlehydrat der tierischen Nukleinsäure verhält sich ebenso, dagegen zeigt die Glukuronsäure in diesem letzteren Falle nur eine schwache braune Färbung. Es zeigen also scheinbar nur dann alle Kohlehydrate der Reihe C_2 bis C_6 mit Naphthol und Schwefelsäure eine rote Farbe, wenn auf 1 Teil Lösung 8 Teile Schwefelsäure kommen oder wenn man die Reaktion in der für die Molisch sche üblichen Art ausführt.

Um den Einfluß der neben den Zuckern im tierischen Organismus in größerer Menge vorhandenen Stoffe kennenzulernen, wurde eine Versuchsreihe derart angesetzt, daß je 1 ccm einer 0,01%igen Glukoselösung mit je 1 ccm der Lösung desjenigen Stoffes vermengt wurden, der geprüft werden sollte, sodann zu jeder Probe 18 ccm der üblichen Schwefelsäure und nach dem Erhitzen je 0,4 ccm einer 5%igen alkoholischen Naphthollösung hinzugefügt wurde. Die auftretende Farbe wurde mit der Farbe einer Probe verglichen, bei der 1 ccm Glukoselösung mit 1 ccm destilliertem Wasser vermischt wurde. Es zeigte sich, daß Aminosäuren in 1%iger, Harnsäure in 0,1%iger, Kreatin in 1%iger, Azeton in 0,1%iger, Harnstoff in 1%iger Lösung ohne jeden Einfluß auf die Intensität der Farbe waren. Oleinsaures Natrium in 1%iger Lösung zeigte eine intensive Trübung und braune Verfärbung. Dieselbe Verfärbung zeigte auch Glyzerin in 1%iger Lösung. Man muß aber bedenken, daß die Konzentration dieser Stoffe hier hundertmal so groß war wie diejenige des Zuckers. Wird nur so viel Glyzerin beigemischt, daß seine Konzentration derjenigen des Zuckers gleich ist, so übt das keinen Einfluß auf die Farbreaktion des Zuckers.

δ) Die Intensität der Naphtholreaktion I bei verschiedenen Zuckern.

Die einzelnen Hexosen und Pentosen reagieren sehr verschieden stark bei der Naphtholreaktion I. Setzt man die Farbintensität, die eine Glukoselösung bestimmter Konzentration ergibt, gleich 100, so beträgt die Farbintensität bei

Mannoselösung	gleicher Konzentration (Merck)	. . . .	40
Galaktose	„	„	50
Fruktose	„	„	130

Die Arabinose zeigt einen etwas anderen Farbton als Glukose, kann daher mit demjenigen der Glukose nur ungenau verglichen werden. Eine 0,01%ige Lösung der Arabinose verhielt sich zu einer gleich konzentrierten Lösung der Glukose wie 6 : 5, die Glukuronsäure wich im Farbton von der Glukose stark ab (himbeerrot gegen rotviolett). Die Intensität der Farbe ist bei der Glukuronsäure ungefähr nur halb so groß wie bei Glukose. Um den Einfluß festzustellen, den die Bindung einer Hexose in einem komplexen Molekül auf die Intensität der Naphtholreaktion I ausübt, wurden je 5 ccm 0,1%iger Lösung von Maltose, Laktose, Dextrinum purissimum Merck und Glykogen (das letztere Präparat stammte von der französischen Firma Clin) mit 10%iger HCl bis zu einem Gehalt von 2% an derselben versetzt und die Lösungen im Wasserbade zwei Stunden erhitzt. Jede von diesen Zuckerlösungen wurde auf 50 ccm aufgefüllt und mit der ebenso verdünnten, ursprünglichen Lösung des betreffenden Zuckers, die nicht mit Salzsäure erhitzt worden ist, kolorimetrisch verglichen. Bei der Laktose und Maltose zeigten die Lösungen nach dem Erhitzen mit Salzsäure genau denselben Farbwert wie vor dem Erhitzen, beim Glykogen bewirkte das Erhitzen der Salzsäure eine Zunahme der Farbe um 7%, beim Dextrin um 10%. Die im Dextrin- und Glykogenmolekül gebundene Dextrose reagiert also nicht ganz so stark wie die freie, wenn auch der Unterschied nur gering ist.

b) Naphtholreaktion II.

Da die Unterschiede in der Reaktionsfähigkeit der einzelnen Zucker mit Naphthol und Schwefelsäure für die Bestimmung dieses Zuckers im Gemenge miteinander von Bedeutung zu werden versprachen, erschien es aussichtsreich, zu untersuchen, ob nicht durch eine entsprechende Variation der Bedingungen, unter denen man die Reaktion stattfinden läßt, dieselbe sich so gestalten ließe, daß die Unterschiede im Verhalten der einzelnen Zucker besonders groß ausfielen. Zu diesem Zwecke wurde das Verhalten verschiedener Hexosen bei der Naphtholreaktion I untersucht, wenn man die Zeitdauer des Erhitzens und die Menge des hinzugefügten Naphthols änderte. Diese beiden Faktoren erwiesen sich aber als ohne Bedeutung für das Verhältnis der Farbintensitäten der einzelnen Hexosen. Dagegen ergaben sich ganz neue und höchst wechselnde Befunde, wenn man einerseits die Konzentration der Schwefelsäure, anderseits die Temperatur, bei der das Reaktionsgemisch erhitzt wurde, variierte. Beim Ansatz 1 ccm Lösung plus 9 ccm 75volumprozentiger Schwefelsäure plus

0,2 ccm 5%iger alkoholischer α-Naphtollösung tritt beim Erwärmen im siedenden Wasserbad in einer Mannoselösung die Reaktion viel stärker zutage als in einer Glukoselösung, beim längeren Erhitzen wird die Differenz jedoch immer kleiner. Das Verhältnis der Farbintensitäten verschiebt sich noch mehr zugunsten der Mannose und Galaktose, wenn man statt bei 100 bei 60 bis 70° erwärmte. Auch hier war die Differenz am stärksten nach etwa einer Minute Erhitzen. Dabei zeigte die Mannose eine mehr als zehnmal so starke Farbe als die Glukose. Zu demselben Resultat kann man aber auch auf einem anderen, für die Praxis bequemeren Weg als es das Erhitzen bei 60 bis 70° ist, gelangen. Fügt man nämlich zu 1 ccm einer Zuckerlösung Naphthol und dann 9 ccm einer 75volumprozentigen Schwefelsäure hinzu, so steigt die Temperatur des Reaktionsgemenges etwas an, und läßt man es einige Minuten stehen, so entwickelt sich langsam dieselbe Farbreaktion, wie es beim Erhitzen im Wasserbade bei 60° der Fall ist, wobei das Verhältnis der Farbintensitäten bei den einzelnen Hexosen ebenso günstig ist. Diese letztere Form der Reaktion wollen wir weiter unten als Naphtholreaktion II bezeichnen.

α) Die optimalen Bedingungen der Naphtholreaktion II.

Da der Wert der Naphtholreaktion II darin besteht, daß die verschiedenen Hexosen bei gleicher Konzentration eine starke Verschiedenheit der Farbintensität aufweisen, so sind diejenigen Bedingungen als optimal anzusehen, bei denen einerseits diese Verschiedenheiten am stärksten zum Vorschein kommen, anderseits die Intensität der Farbe so groß als möglich ist. Dies ist der Fall, wenn auf 1 ccm der Zuckerlösung 0,5 ccm einer 2%igen alkoholischen α-Naphtholösung und 9 ccm einer 75volumprozentigen Schwefelsäure hinzugefügt, die einfach so hergestellt wird, daß 190 ccm Wasser mit 450 ccm konzentrierter Schwefelsäure von spezifischem Gewicht 1,84 vermischt werden. Nach Umschütteln wartet man 15 Minuten und führt dann den kolorimetrischen Vergleich aus.

Vorsichtsmaßregeln.

Bei Lösungen von Glukose, die mehr als 0,1% enthalten, respektive von anderen Zuckern so viel, daß die Farbintensität der Lösung derjenigen einer Glukoselösung von 0,1% gleich ist, tritt schon nach dieser Zeit eine Trübung auf, die kolloidaler Natur zu sein scheint und die der Konzentration des Zuckers proportional ist (denn sie stört den kolorimetrischen Vergleich keineswegs). Man kann aber natürlich die Kolorimetrie in klaren Lösungen ausführen, wenn man eben durch ent-

sprechende Verdünnung die Konzentration des Zuckers unterhalb der oben erwähnten Grenze herabsetzt. Da bei der Naphtholreaktion II zur Farbentwicklung die beim Vermischen der Säure mit Wasser entwickelte Wärme notwendig ist, so müssen beim Ansetzen der Reaktion gewisse Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden, die eine gleichmäßige Wärmewirkung in allen gleichzeitig angesetzten Proben gewährleisten. Da es hier auf die Wärmeeinwirkung nicht wie bei der Molisch-Reaktion im ersten Moment des Vermischens von Säure und Wasser ankommt, sondern dieselbe sich auf die gesamte Zeit bis zur vollständigen Abkühlung des Reaktionsgemisches verteilt, so spielen hier Ungleichmäßigkeiten beim Vermischen der Säure und des Wassers keine Rolle, vielmehr nur die Geschwindigkeit, mit der die Ableitung der Wärme von dem Reaktionsgemisch vor sich geht. Aus diesem Grunde müssen die miteinander verglichenen Proben in Eprouvetten von ungefähr gleichem Durchmesser angesetzt werden und das Umschütteln bei verschiedenen Proben möglichst gleichzeitig und in gleicher Weise erfolgen. Da ferner das Verhältnis der Farbintensitäten, wie verschiedene Zuckerarten aufweisen, bis zu einem gewissen Grade von dem Zeitpunkt abhängen, der seit dem Ansetzen der Probe verflossen ist, so muß der kolorimetrische Vergleich sehr rasch erfolgen, etwa zwischen der 15. und 20. Minute. Man darf demnach im allgemeinen nicht mehr als zwei Proben auf einmal ansetzen, weil sonst die Kolorimetrie zu lange Zeit in Anspruch nehmen würde.

Die Kolorimetrie selbst muß so ausgeführt werden, wie es oben bei Naphtholreaktion I beschrieben wurde, das heißt es muß zunächst die stärkere Probe durch Verdünnen mit einer Leerprobe auf ungefähr Farbengleichheit gebracht werden und erst dann die fast gleichen Proben im Kolorimeter miteinander verglichen werden, woraus unter Berücksichtigung der stattgehabten Verdünnung die Konzentration der stärkeren Probe ermittelt werden kann. Es ergibt nämlich das Naphthol selbst schon bei der Naphtholreaktion II eine schwache braune Farbe, die sich der eigentlichen Farbreaktion der Zucker addiert.

Bei Berücksichtigung all dieser Umstände erweist sich die Naphtholreaktion II der jeweiligen Konzentration der Zuckerlösung vollkommen proportional, der maximale Ablesungsfehler betrug $\pm$ 4%. Es wurden Mannoselösungen, deren Konzentration im Bereiche von 0,025 bis 0,0025% gelegen war, sowie Galaktoselösungen von zweimal so großer, Glukoselösungen von zehnmal so großer Konzentration auf Proportionalität untersucht. Die unterste Grenze der Konzentration, bei der noch eine deutliche Farbreaktion auftritt, beträgt 0,002% Mannose.

β) Verhalten verschiedener Zucker bei der Naphtholreaktion II.

Was die Qualität und die Intensität der Farbe der Naphtholreaktion II bei verschiedenen Zuckern betrifft, so zeigen Mannose und Galaktose dieselbe Farbqualität wie Glukose, nur ist die Farbe bei Mannose zehnmal, der Galaktose fünfmal so stark wie bei der Glukose. (Diese Verhältniszahlen gelten, wenn der kolorimetrische Vergleich zwischen der 15. und 20. Minute nach Ansetzen der Reaktion erfolgt.) Wie schon oben bemerkt, ändern sich diese Zahlen etwas mit der Zeit. Es sind aber diese Aenderungen zwischen der 20. und 30. Minute sehr gering, denn es zeigte zum Beispiel eine Galaktoselösung von 0,01% die zwischen der 15. und 20. Minute in der Farbintensität einer Glukoselösung von 0,05% genau entsprach, nach 25 Minuten eine nur um 3% schwächere Farbe als dieselbe Glukoselösung, nach 30 Minuten war die Farbe um 5% schwächer.

Die Fruktose verhält sich in bezug auf die Farbqualität ganz anders als die Aldose: die Farbe ist nicht rosa, sondern blau mit einem violetten Ton. Der entstehende Farbstoff zeigt auch bei Verdünnung mit Wasser des Reaktionsgemisches ein anderes Verhalten, als es bei Aldosen der Fall ist. Wird zum Beispiel mit einer 1%igen Lösung von Fruktose die Naphtholreaktion II angesetzt und nach 15 Minuten das Reaktionsgemisch mit dem mehrfachen Volumen destillierten Wassers verdünnt, so erscheint die Lösung schön blau und vollkommen klar. Bei einer Mannose- oder Glukoselösung gleicher Konzentration fällt der Farbstoff bei gleicher Behandlung in kompakten roten Flocken aus. Diese Verschiedenheit des Verhaltens kann zum Nachweis kleiner Mengen Fruktose neben großen Mengen anderer Zucker benützt werden. Die Empfindlichkeit der Reaktion ist bei Fruktose ebenso groß wie bei Mannose, also untere Grenze etwa 0,002%.

Pentosen zeigen eine violettrote Farbe bei gleichzeitiger Trübung. Die Empfindlichkeit der Reaktion ist bei ihnen einigemal größer als bei Glukose. Die Triosen zeigen ein ähnliches Verhalten wie die Fruktose, das heißt eine violettblaue Farbe, nur tritt gleichzeitig eine intensive Trübung auf, auch sind zum positiven Ausfall der Reaktion viel größere Konzentrationen nötig, zum Beispiel bei Glyzerinaldehyd tritt die Reaktion deutlich erst bei 0,1% ein. Das Kohlehydrat der Thymonukleinsäure sowie Glukuronsäure zeigt selbst bei halbprozentiger Lösung nicht die geringste Farbe, ebensowenig Milchsäure in 1%iger Lösung, Azetaldehyd und Azetaldol zeigen intensiv braune Farbe.

Die komplexen Kohlehydrate, wie Glykogen und Dextrin, weisen wieder ein eigenartiges Verhalten bei der Naphtholreaktion II auf. Die Intensität der auftretenden Farbe ist zum Unterschied von allen anderen hier beschriebenen Kohlehydratreaktionen viel geringer, als wenn die im komplexen Kohlehydrat enthaltenen Monosen frei wären. Eine 0,2%ige Lösung von Glykogen wie von Dextrinum purissimum Merck entsprach bei der Ablesung nach 15 Minuten 0,08% Glukose, das Verhältnis der Intensitäten gegenüber der Glukoselösung ändert sich aber mit der Zeit in dem Sinne, daß es um so mehr zugunsten des Glykogens verschoben wird, je weiter die Reaktion fortschreitet, weil offenbar inzwischen eine Spaltung des Glykogenmoleküls Fortschritte macht. Die an die Eiweißkörper des Blutplasmas gebundene Mannose ist noch viel weniger reaktionsfähig als die im Glykogenmolekül gebundene Glukose, denn die Farbe, die die Eiweißkörper des Blutplasmas bei der Naphtholreaktion II ergeben, macht nur etwa ein Zehntel derjenigen aus, die auftreten müßte, wenn die an sie gebundene Mannose frei wäre. Maltose und Laktose dagegen reagieren ganz so wie die in ihnen enthaltenen Monosen im freien Zustand.

γ) Einfluß verschiedener im Tierkörper vorkommender Nichtkohlehydrate auf die Naphtholreaktion II.

Um den Einfluß der wichtigsten im Organismus neben Zucker vorkommenden organischen Substanzen kennenzulernen, wurde folgende Versuchsreihe angesetzt: Je ½ ccm einer Mannoselösung von 0,02% wurde in Eprouvetten mit je ½ ccm destillierten Wassers respektive ½ ccm folgender Lösungen vermengt: 1. 1%ige Lösung von Aminosäuren, die durch Vermischen gleicher Volumina von je 1% Tyrosin, Alanin, Asparaginsäure, Zistin sowie 0,1%iger Hystidinlösung bereitet wurde. 2. 1%ige β-Oxybuttersäure-, 3. 0,1%ige Harnsäure-, 4. 0,5%ige Kreatinin-, 5. 0,2%ige Azeton-, 6. 1%ige Glyzerin-, 7. 2%ige Cholin-, 8. gesättigte wäßrige Allantoinlösung, dazu je 0,5 ccm 2%iger Naphthollösung und 9 ccm 75volumprozentiger Schwefelsäure. Nach 10 Minuten verhielt sich die Mannoselösung ohne Zusatz organischer Substanzen zu Lösung 1 wie 9 : 9,2, zu 2 wie 9 : 9,4, zu 3 wie 9 : 9,2, zu 4 wie 9 : 9,2, zu 5 wie 9 : 9,3, zu 6 wie 9 : 9,2, zu 7 wie 9 : 9, zu 8 wie 9 : 9. Alle diese Substanzen beeinflußten also die Intensität der Reaktion nicht im geringsten. Ebensowenig tun es die Eiweißkörper. Vermischt man nämlich eine Mannoselösung von 0,02% mit fünffach verdünntem durch Dialyse vom Blutzucker befreiten Pferde Blutplasma im Verhältnis 1 : 1, so zeigt die so erhaltene Lösung eine Farbe, deren Intensität

gleich ist der Summe der Farben, die jede der vermischten Lösungen für sich gibt, wenn man sie im Verhältnis 1 : 1 mit destilliertem Wasser vor Ansatz der Naphtholreaktion II vermischt.

2. Reaktion der Kohlehydrate mit Diphenylamin und Salzsäure.

Diese Reaktion, als Ihl-Pechmannsche bekannt, wurde schon vor langer Zeit zum Nachweis von Fruktose im Harn und anderen Lösungen verwendet. Wird nämlich eine Zuckerlösung mit dem gleichen Volumen konzentrierter Salzsäure und einigen Tropfen 10- bis 20%iger alkoholischer Diphenylaminlösung versetzt und 60 bis 80 Sekunden im Wasserbad erhitzt, so zeigt nach Jolles die Fruktose eine fünfzigmal so starke Farbe als eine Glukoselösung gleicher Konzentration. In neuester Zeit wurde die Reaktion in dieser Form von van Crevel[7] zur quantitativen Bestimmung der Fruktose im Blute verwendet; da der gebildete blaue Farbstoff in der Kälte ausfällt, muß er für den kolorimetrischen Gebrauch in Amylalkohol aufgenommen werden. Um sich diese Operation zu ersparen, wurde für die Zwecke der vorliegenden Untersuchung die von Rothenfusser[7] angegebene Form der Reaktion verwendet. Dieser mischt (zum Zwecke des Nachweises der Saccharose) 1 Teil der Zuckerlösung mit 1 Teil des Reagens, das durch Vermischen von 120 ccm konzentrierter Salzsäure, 60 ccm Eisessig und 20 ccm 5%iger alkoholischer Diphenylaminlösung entsteht, und erhitzt durch zehn Minuten in siedendem Wasserbade. Der Eisessig hat hier nur die Funktion, den gebildeten Farbstoff in Lösung zu halten, seine Menge ist für die Intensität der Reaktion ohne Bedeutung.

α) Einfluß der Zeitdauer des Erhitzens sowie der Konzentration der Säure und des Diphenylamins auf die Intensität der Reaktion.

Bei der Prüfung der Diphenylaminreaktion in der von Rothenfusser angegebenen Form auf ihre Verwendbarkeit für die kolorimetrische Bestimmung der Zucker zeigte es sich, daß man sowohl die Zeit des Erhitzens wie die Zusammensetzung des verwendeten Reagens ändern mußte, um zu brauchbaren Resultaten zu gelangen; was den ersten Punkt anbetrifft, so erwies sich die Zeitdauer des Erhitzens von 10 Minuten, wie sie Rothenfusser angibt, als nicht praktisch, wenn es sich um Bestimmung der Zuckerkonzentration in Lösungen von Aldosen handelt, denn in in diesem Fall ist die entwickelte Farbe so schwach, daß sie für biochemische Zwecke vielfach nicht verwendbar wäre. Anderseits zeigt die Diphenylaminreaktion die Eigenschaft, daß die Farbe mit der Zeitdauer des Erhitzens fortwährend ansteigt und

selbst nach einer Stunde das Maximum noch nicht erreicht ist. Glukoselösungen von 0,005% zeigen nach einer halben Stunde des Erhitzens eine genügend intensive Farbe, um kolorimetrisch verglichen zu werden. Ein Erhitzen über diese Zeit hinaus erscheint unzweckmäßig, da die Zunahme der Intensität nach 30 Minuten zu gering ist, als daß es sich verlohnte, deswegen die Zeitdauer der kolorimetrischen Bestimmung zu verlängern. Handelt es sich dagegen um Lösungen von Fruktose oder von Zuckern, welche diese im Molekül enthalten, so liegt die Sache ganz anders. Hier ist die blaue Farbe schon nach etwa drei Minuten so intensiv, daß eine Lösung von 0,005% Fruktose einem kolorimetrischen Vergleich unterzogen werden kann. Handelt es sich um noch mehr verdünnte Lösungen von Fruktose, so muß das Erhitzen allerdings noch weiter ausgedehnt werden, zum Beispiel bei 0,002% auf 10 Minuten, dabei ändert sich allerdings das Verhältnis der Farbintensität Fruktose zu Glukose zu ungunsten der ersteren. Im nachfolgenden werden wir also zwei verschiedene Formen der Diphenylaminsalzsäurereaktion unterscheiden, je nachdem, ob das Erhitzen wie bei Fruktoselösungen nur drei, oder wie bei Aldoselösungen 30 Minuten lang dauert. Die erstere bezeichnen wir als Diphenylaminreaktion II, die zweite als Diphenylaminreaktion I.

Auch die Zusammensetzung des von Rothenfusser angegebenen Reagens muß abgeändert werden, um optimale Bedingungen der Reaktion zu erhalten. Es müssen auf 200 Teile des Reagens mindestens 20 Teile einer 10%igen alkoholischen Diphenylaminlösung kommen, um das Maximum der Farbintensität zu erzielen. Auch muß das Verhältnis von Salzsäure und Eisessig zugunsten des letzteren verschoben werden, weil sonst infolge des höheren Diphenylamingehaltes und längeren Erhitzens nach dem Abkühlen des Reaktionsgemisches eine intensive Trübung eintritt.

Der folgende Vorgang beim Ansetzen der Reaktion erwies sich als der beste: Das Reagens besteht aus 100 Teilen konzentrierter Salzsäure (spezifisches Gewicht 1,18), 80 Teilen Eisessig und 20 Teilen alkoholischer 10%iger Diphenylaminlösung. Die Reaktion wird in der Weise angesetzt, daß auf 1 Teil Zuckerlösung 2 Teile von diesem Reagens hinzugefügt werden, dieses Gemenge durch 30 oder 3 Minuten in siedendem Wasserbade erhitzt wird und sofort nach dem Abkühlen die kolorimetrische Messung ausgeführt wird. Bei längerem Stehen treten manchmal Trübungen auf, die die Messung stören. Da das Reagens an und für sich beim Erhitzen gar keine Farbe zeigt, kann bei dieser Reaktion der kolorimetrische Vergleich direkt im Dubosque-Kolorimeter

ausgeführt werden, und es muß nicht, wie es bei den anderen in dieser Arbeit beschriebenen Reaktionen der Fall ist, die jeweils stärker gefärbte Probe durch Hinzufügen der Leerprobe auf ungefähre Farbengleichheit gebracht werden. Bei diesem Verfahren erweist sich die Farbintensität in einem Konzentrationsbereich von 0,005 bis 0,05 als der Zuckerkonzentration vollkommen proportional. Das Reagens darf jedoch nicht länger als eine Woche alt sein, da es sonst eine Eigenfarbe zeigt.

β) Verhalten verschiedener Hexosen bei der Diphenylaminsalzsäurereaktion und die Spezifität derselben.

In der Literatur wird angegeben, daß die Ihl-Pechmannsche Reaktion für die Hexosen charakteristisch ist. Diese Angabe ist aber in dieser allgemeinen Fassung nur beschränkt gültig. Sie gilt nämlich nur, wenn bei genügend konzentrierten Zuckerlösungen genügend lange bei der Ausführung der Reaktion erhitzt wird. — Je nach der Konzentration der verwendeten Zuckerlösung und nach der Dauer des Erhitzens sowie je nach der Art des verwendeten Zuckers zeigt diese Reaktion eine große Mannigfaltigkeit der Erscheinungen. Die charakteristische blaue Farbe tritt nur dann rein in die Erscheinung, wenn die Lösungen nicht zu sehr konzentriert sind, dafür aber mindestens 10 Minuten lang erhitzt werden. Werden zum Beispiel 1%ige Lösungen der Zucker verwendet, so zeigt sich bei sehr kurzem Erhitzen (unter 3 Minuten), daß die einzelnen Hexosen sich in ihrer Reaktionsfähigkeit ganz verschieden verhalten. Nach 1½ Minuten Erhitzen zeigt eine 1%ige Glukoselösung gar keine Farbe, eine 1%ige Fruktoselösung zeigt eine intensive braune Farbe, eine 0,25%ige Lösung des hexosediphosphorsauren Kalziums (Kandiolin Bayer), das sich sonst der Fruktose sehr ähnlich verhält, zeigt eine rotviolette Farbe. Das in diesem Ester enthaltene Kohlehydrat dürfte also mit der gewöhnlichen Fruktose nicht identisch sein. Dauert das Erhitzen 3 Minuten, so ändert sich das Bild wieder vollkommen. Die 1%ige Lösung der Glukose zeigt jetzt eine blaue Farbe, eine 1%ige Galaktoselösung eine violette Farbe von bedeutend geringerer Intensität als die der Glukose, die Fruktose eine Mischfarbe zwischen dem schon früher aufgetretenen Braun und einer neu hinzukommenden blauen Farbe. Dagegen zeigt die 1%ige Mannoselösung jetzt eine intensiv braune Farbe. Dieselbe braune Farbe zeigen auch die Pentosen. Bei der Mannose und der Fruktose spielt sich demnach die Reaktion mit Diphenylamin und Salzsäure in zwei verschiedenen Phasen ab; indem anfangs ein brauner Farbstoff entsteht, dem sich später ein blauer Farbstoff überlagert. Die erste Farbreaktion

ist viel weniger empfindlich als die zweite; wird also nicht mit 1%iger Lösung, sondern mit verdünnten Lösungen, zum Beispiel 0,02%, gearbeitet, so erscheint die braune Farbreaktion überhaupt nicht, sondern die Reaktionsgemische bleiben längere Zeit (bei Fruktose 2 Minuten, bei Mannose 10 Minuten) ganz farblos und dann tritt sofort die blaue Farbe auf. Spezifisch für Hexosen ist also die Farbreaktion mit Diphenylamin und Salzsäure nur dann, wenn sie mit verdünnten Lösungen bei mindestens 10 Minuten dauerndem Erhitzen angesetzt wird. Unter diesen Umständen zeigen die Pentosen eine braune Farbe, Glyzerinaldehyd, Dioxyazeton, Metylglyoxal und Azetaldehyd eine gelbe bis braune Farbe. Eine halbprozentige Lösung von Thymonukleinsäure zeigt eine intensive violettrote Farbe. Was aber das Verhältnis der Intentsität der Farbreaktion bei den einzelnen Hexosen betrifft, so ist auch dieses zum Teil von der Dauer des Erhitzens stark abhängig. Vergleicht man zum Beispiel eine 0,01%ige Fruktoselösung mit einer Glukoselösung von 0,5%, so zeigt sich bei 3 Minuten langem Erhitzen die Fruktoselösung gleich stark gefärbt wie die Glukoselösung, nach 10 Minuten langem Erhitzen ist das Verhältnis Fruktose: Glukose wie 1 : 2, bei weiterem Erhitzen verschiebt sich das Verhältnis sehr stark zugunsten der Glukose, nach 15 Minuten reagiert die Fruktose nur mehr zwanzigmal stärker als Glukose, nach 30 Minuten nur etwa fünfmal so stark wie eine Glukoselösung gleicher Konzentration. Die Unterschiede in der Reaktionsfähigkeit der einzelnen Aldosen untereinander dagegen sind nicht in so starkem Maße abhängig von der Dauer des Erhitzens; nach 30 Minuten verhält sich eine Mannoselösung zu einer Glukoselösung gleicher Konzentration wie 11 : 10, eine Galaktoselösung zur Glukoselösung gleicher Konzentration wie 6 : 10. Glykogen und Dextrin verhalten sich so, wie wenn die in ihnen enthaltene Glukose frei wäre. Ganz anders dagegen verhält sich die an die Eiweißkörper des Plasmas gebundene Mannose. Hier entspricht die Farbentwicklung nicht dem Gehalt an Manose, wie er durch andere Methoden festgestellt worden ist, sondern ist wesentlich kleiner.

γ) Einfluß verschiedener im Tierkörper vorkommender organischer Substanzen auf die Diphenylaminsalzsäurereaktion.

Von den im Tierkörper in größerer Menge vorkommenden organischen Substanzen wurden folgende auf ihren Einfluß auf die Reaktion geprüft: Eine Lösung der vier Aminosäuren: Prolin, Asparaginsäure, Zystin und Tyrosin, durch Vermischen der 1%igen Hydochloridlösungen zu gleichen Teilen hergestellt. 1%ige Alaninlösung, 1%ige Lösungen von Glyzerin, Harnstoff, β-Oxybuttersäure, Kreatinin, 1%ige Azetonlösung und

0,1%ige Lösung von Harnsäure. Die Versuche wurden so angestellt, daß zu 1 ccm einer 0,0125%igen Glukoselösung 1 ccm der betreffenden Lösung und dann 4 ccm des betreffenden Reagens hinzugefügt wurden, worauf nach dem Erhitzen die Intensität der Farbreaktion mit derjenigen einer Probe verglichen worden ist, die genau ebenso angesetzt worden ist, nur daß zu 1 ccm der Zuckerlösung 1 ccm destilliertes Wasser hinzugefügt worden war. Die Zuckerlösungen mit Zusetzen organischer Substanzen zeigten gegenüber reinen Zuckerlösungen nur Differenzen, die innerhalb der Fehlergrenze der kolorimetrischen Ablesung $\pm$ 4%) lagen. Endlich wurde noch untersucht, inwieweit Zusätze von Arabinose und Glukoronsäure auf die Intensität der Farbreaktion von Glukoselösungen von Einfluß sind. Es ergab sich dabei, daß eine Glukoselösung von 0,00625% bei Zusatz von 0,005% Glukuronsäure nur um 4% in der Farbe verstärkt wird, eine Glukoselösung von 0,02%, die außerdem noch 0,005% Arabinose und 0,005% Glukuronsäure enthielt, eine nur um 5% stärkere Farbe aufwies als eine reine Glukoselösung von 0,02%. Eine Lösung von 0,00625% Glukose erfährt durch 0,0125% Thymonukleinsäure nur eine Verstärkung von 2,5%.

3. Reaktion der Kohlehydrate mit Indol und Schwefelsäure.

Diese Reaktion ist vom Verfasser gemeinsam mit Hans Popper einer genauen Untersuchung unterzogen worden. Wie schon oben erwähnt, waren es unter anderem gewisse Nachteile der auf dieser Farbreaktion basierenden Methode zur kolorimetrischen Mikrobestimmung der Kohlehydrate, die Anlaß zur vorliegenden Untersuchung gegeben haben. Es soll an dieser Stelle nur auf einige Tatsachen eingegangen werden, die zu behandeln in der früheren Untersuchung dieser Reaktion keine Möglichkeit oder kein Anlaß vorhanden war.

α) Proportionalität zwischen Zuckerkonzentration und Farbintensität bei der Indolschwefelsäurereaktion.

Dische und Popper haben gefunden, daß bei dieser Reaktion, die so ausgeführt wird, daß auf 1 ccm der Zuckerlösung 9 ccm einer 75volumprozentigen Schwefelsäure (190 H_2O + 450 H_2SO_4, spezifisches Gewicht 1,84) und 0,3 ccm 1%iger Indollösung hinzugefügt und 10 Minuten in siedendem Wasserbade erhitzt wird, die Intensität der Farbreaktion im Konzentrationsbereiche der Zuckerlösung von 0,006 bis 0,05% der Zuckerkonzentration nicht streng proportional ist, sondern daß die verdünnten Lösungen immer etwas stärker sind, als es der Proportionalität entspräche. Diesen Abweichungen konnte durch eine empirische Formel

Genüge geleistet werden. Unterhalb einer Konzentration von 0,006 wurden die Abweichungen von der Proportionalität sehr groß: sie konnten nach der für die höheren Konzentrationen noch brauchbaren empirischen Formel nicht mehr korrigiert werden. Die Erfahrungen, die der Verfasser inzwischen an den in dieser Arbeit beschriebenen Farbreaktionen der Kohlehydrate gemacht hat, ließen die Vermutung aufkommen, daß die Abweichungen von der Proportionalität bei der Indolschwefelsäurereaktion auf der Eigenfarbe beruhen könnten, die das mit Schwefelsäure erhitzte Indol zeigt. In diesem Falle müßte sich Proportionalität zwischen Zuckergehalt und Farbintensität zeigen, sobald man den kolorimetrischen Vergleich zweier Lösungen so ausführt, wie es oben bei der Naphtholreaktion beschrieben wurde, das heißt es wird immer ein abgemessenes Volumen der jeweils stärkeren Lösung solange mit einer Leerprobe (die keinen Zucker enthält, sonst aber wie die anderen angesetzt worden ist) verdünnt, bis sie eine der anderen verdünnten Lösung gleiche Farbstärke aufweist, und aus dem Grad der Verdünnung die relative Farbstärke der beiden Lösungen berechnet. Auf diese Weise wurde an Glukoselösungen zwischen 0,002% und 0,02% das Verhältnis zwischen Konzentration und Farbstärke bestimmt. Es zeigte sich, daß bei diesem Verfahren tatsächlich die Farbstärke der Zuckerkonzentration vollkommen proportional war. Auf diese Weise erscheint der Verwendungsbereich der Indolschwefelsäurereaktion viel größer, als Dische und Popper angenommen haben, denn für diese Reaktion ist es irrelevant, ob sie so ausgeführt wird, daß zu 1 Teil Zuckerlösung 9 Teile von 75 volumprozentiger Schwefelsäure oder auf 3½ Teile Zuckerlösung 7 Teile konzentrierte Schwefelsäure unter Kühlung hinzugefügt werden. Selbst also, wenn die Konzentration des Zuckers in der Lösung nur 0,0005% beträgt, ist bei dem zweiten Modus der Ausführung die Reaktion noch genügend empfindlich und die Farbstärke der Konzentration proportional.

β) Verhalten verschiedener Zucker bei der Indolschwefelsäurereaktion.

Das meiste darüber ist in der Arbeit von Dische und Popper enthalten. Hier sei nur einiges nachgetragen. Das Verhältnis der Intensitäten, mit der die einzelnen Hexosen mit Indol und Schwefelsäure reagieren, ist in hohem Grade unabhängig sowohl von der Konzentration der angewendeten Schwefelsäure wie auch von der Zeitdauer des Erhitzens. Bei der gewöhnlichen Ausführung der Reaktion zeigt die Lävulose (purissimum Merck) 125%, die Mannose nur 70% der

Farbintensität der Glukose, die Galaktose 75%. Dabei ist das Verhältnis der Farbintensitäten der einzelnen Zucker untereinander verschieden, je nachdem, ob die Reaktion so ausgeführt wird, daß zu 1 Teil Zuckerlösung 9 Teile 75volumprozentiger Schwefelsäure oder auf 3 Teile Lösung 7 Teile konzentrierte Schwefelsäure unter Kühlung hinzugefügt werden. Denn im letzteren Falle verschiebt sich das Verhältnis zugunsten der Mannose und Galaktose. Ebenso, wenn man statt 10 Minuten nur 3 Minuten erhitzt oder statt 75volumprozentiger Säure eine 60volumprozentige benützt. Wird aber die Reaktion so ausgeführt, daß zu 1 Teil Fruktoselösung 0,1 ccm einer 1%igen Indollösung und dann 4 ccm 75volumprozentiger Schwefelsäure hinzugefügt werden, ohne zu Erhitzen, so zeigt die Fruktose eine zirka fünfhundertmal so starke Farbe als die Glukose.

4. Reaktion der Kohlehydrate mit Phlorogluzin und Schwefelsäure.

Die rote Farbe, die die Pentosen und die Glukuronsäure beim Erhitzen mit Phlorogluzin und Salzsäure geben, ist schon seit langer Zeit zur Erkennung dieser Stoffe verwendet worden. Diese rote Farbe tritt nur rein auf, wenn bei Ausführung der Proben nicht zu lange erhitzt wird. Ist das letztere der Fall, so tritt neben der anfänglichen Rotfärbung eine intensive Braunfärbung auf. Die anderen Kohlehydrate zeigen nun durchwegs diese Braunfärbung beim Erhitzen mit Phlorogluzin und Salzsäure von vornherein ohne vorherige Rotfärbung. Da hiebei die einzelnen Zucker eine sehr verschiedene Farbintensität entwickeln, so wurde diese Reaktion einer näheren Prüfung unterzogen. Es zeigte sich aber, daß bei Verwendung von Salzsäure die Reaktion unbrauchbar ist, da, wenn die Konzentration der Säure im Konzentrationsgemisch über 20% beträgt, Proben gleichen Zuckergehaltes nicht genügend konstante Werte zeigen. Geht man aber mit der Konzentration unter 20% herunter, so tritt nach dem Abkühlen des Reaktionsgemenges eine intensive Trübung auf. Nun zeigte sich aber, daß die Reaktion statt mit Salzsäure mit Schwefelsäure entsprechender Konzentration angesetzt werden kann, wobei die erwähnten Uebelstände ausbleiben.

α) Einfluß der Säure- und Phlorogluzinkonzentration sowie der Zeit des Erhitzens auf die Reaktion.

Die Säurekonzentration, die Menge des hinzugefügten Phlorogluzins und die Zeitdauer des Erhitzens sind von sehr großem Einfluß auf die Intensität dieser Farbreaktion. Dabei ist das Gesetz der Abhängigkeit von diesen Faktoren bei jedem Zucker ein anderes, so daß sich, je nach

der Art der Ausführung, eine verwirrende Mannigfaltigkeit der Verhältnisse zeigt. Der Wert dieser Reaktion liegt aber darin, daß die einzelnen Zucker eine sehr verschiedene Farbintensität dabei entwickeln und daß auch die komplexen Kohlehydrate im Gegensatz zur Naphtholreaktion II, die ja auch ein hohes Differenzierungsvermögen für die einzelnen Zucker besitzt, bei entsprechender Ausführung der Reaktion dieselben Werte zeigen wie die in ihnen enthaltenen Zucker im freien Zustande. Unter Berücksichtigung dieses Gesichtspunktes wird die Reaktion am besten folgendermaßen ausgeführt: 1 ccm Zuckerlösung wird mit 5 ccm 60volumprozentiger Schwefelsäure und 0,1 ccm einer 10%igen alkoholischen Phlorogluzinlösung versetzt und 2 Minuten, wenn es sich um Lösungen freier Zucker, 3 Minuten, wenn es sich um Lösungen komplexer Kohlehydrate handelt, erhitzt.

β) Proportionalität zwischen Farbintensität und Zuckerkonzentration bei der Phlorogluzinreaktion.

Der kolorimetrische Vergleich verschieden konzentrierter Lösungen muß bei der Phlorogluzinreaktion auf dieselbe Weise ausgeführt werden, wie es bei den Naphtholreaktionen und der Indolreaktion angegeben wurde, also durch Verdünnen der konzentrierteren Lösung mit einer Leerprobe bis zur Farbengleichheit mit der verdünnteren. Das Phlorogluzin zeigt nämlich an und für sich mit Schwefelsäure eine wenn auch sehr geringe gelbe Eigenfärbung.

Glukose- wie Mannoselösungen im Bereich von 0,01 bis 0,04 zeigten dabei vollkommene Proportionalität der Konzentration und der Farbintensität, doch waren die Abweichungen von den theoretischen Werten verhältnismäßig viel größer, als es bei den üblichen kolorimetrischen Methoden der Fall ist, nämlich 10% nach oben und nach unten. Es war nicht festzustellen, womit diese Unregelmäßigkeiten zusammenhängen. Sie beeinträchtigen jedenfalls sehr stark die Verwendbarkeit dieser Reaktion für kolorimetrische Zwecke.

γ) Spezifität der Reaktion und Verhalten verschiedener Zucker.

Die braune Farbreaktion mit Phlorogluzin ist für die Zucker nicht spezifisch. Vor allem geben die aliphatischen Aldehyde diese Reaktion in sehr starkem Grade; zum Unterschied von den Zuckern aber erscheint hier die braune Farbe auch ohne Erwärmung des Reaktionsgemisches, um sich nach Erhitzen noch zu verstärken. Wurde eine Mannoselösung von 0,02% mit Tyrosin, Asparaginsäure, Alanin, β-Oxybuttersäure bis zu einem Gehalt von 1%, Kreatinin, Harnsäure, Hippursäure bis 0,5%, Lävulinsäure bis 0,4%, Azeton bis 0,2% versetzt,

so zeigten die Aminosäuren, Harnsäure, Kreatinin, Hippursäure, Lävulinsäure keine bemerkbare Verstärkung der Farbe gegenüber der reinen Mannoselösung; das Glyzerin erhöhte die Farbe um 10%, Azeton um 6%, β-Oxybuttersäure um 13%; Zusatz von Cholinchlorhydrat bis zu 2% und Allantoin bis zur Sättigung bewirkte eine sehr starke Erhöhung der Farbe. Indessen befanden sich alle diese Körper in einer im Verhältnis zum Zucker so starken Konzentration, wie sie bei physiologischen Verhältnissen gar nicht in Betracht kommen. Man kann demnach annehmen, daß die in den Organen in größerer Menge neben Zucker vorhandenen organischen Substanzen die Reaktion derselben mit Phlorogluzin und Schwefelsäure nicht in bemerkbarem Grade beeinflussen. Was die Reaktionsfähigkeit der einzelnen Zucker mit Phlorogluzin und Schwefelsäure betrifft, so zeigt, wie schon oben angegeben, die Mannose eine dreimal stärkere Farbe, die Fruktose eine zwölfmal stärkere als die Glukose. Die Galaktose differiert etwas im Farbton, doch kann der Vergleich noch gut durchgeführt werden. Galaktose zu Mannose wie 6,8 : 6. Die Pentosen unterscheiden sich stark im Farbton von den Hexosen in dem Sinne, daß der braunen Farbe ein roter Ton beigemischt ist. Dabei ist die Intensität der Reaktion bei den Pentosen einigemal größer als bei Glukose (Xylose zirka sechsmal stärker). Das Kohlehydrat der tierischen Nukleinsäuren reagiert etwa ebenso stark wie Glukose. Glukosamin gibt die Reaktion überhaupt nicht.

Das an die Eiweißkörper des Blutplasmas gebundene, bei der Hydrolyse Mannose liefernde Kohlehydrat zeigt im Vergleich mit der freien Mannose bei der Phlorogluzinschwefelsäurereaktion wiederum ein ganz anderes Verhalten, als es bei den bisher beschriebenen Reaktionen der Fall war. Wird nämlich 1 ccm Pferdeplasma, das durch Dialyse vom freien Plasmazucker befreit worden ist, mit 5 ccm 60volumprozenliger Schwefelsäure und 0,1 ccm 10%iger Phlorogluzinlösung versetzt und zusammen mit einer Probe, die mit einer Mannoselösung angesetzt worden ist, deren Gehalt dem Gehalt der Plasmaprobe an Mannose entspricht, in siedendem Wasserbade durch 2 Minuten erhitzt, so zeigt sich, daß die Färbung der Plasmaprobe geringer ist als diejenige der Probe, die mit reiner Mannoselösung beschickt worden ist. Wird statt 2 Minuten aber 3 Minuten erhitzt, so zeigen sich die beiden Proben gleich. Auch längeres Erhitzen ändert an diesem Verhältnis nichts.

Die an die Eiweißkörper gebundene Mannose erreichte also erst nach 3 Minuten langem Erhitzen denjenigen Grad der Färbung, der ihr zukommen würde, wenn sich in freiem Zustand in Lösung befände.

C. Uebersicht und Erörterung der Ergebnisse.

Um die Uebersicht über die hier beschriebenen Reaktionen zu erleichtern, wurden im nachfolgenden die Daten in drei Tabellen zusammengestellt. Die erste Tabelle enthält die Vorschriften zur Ausführung der Reaktionen, die zweite gibt einen Ueberblick über die Spezifität der Farbreaktionen mit Naphthol und Diphenylamin, sowohl für die Kohlehydrate im allgemeinen gegenüber Nichtkohlehydraten wie auch für die einzelnen Zucker respektive Zuckergruppen anderen Zuckergruppen gegenüber. Die Tabelle ist so angeordnet, daß daraus zu ersehen ist, wie einzelne Zucker durch je einige der hier angegebenen Reaktionen eindeutig zu charakterisieren sind.

In der dritten Tabelle sind die Daten über die verschiedenen relativen Reaktionsintensitäten der einzelnen Zucker (die Farbintensitätskoeffizienten) bei den verschiedenen Reaktionen zusammengestellt.

Tabelle I

Vorschriften zur Ausführung der beschriebenen Farbreaktionen und Angaben über ihre Spezifität.

Naphtholreaktion I	1 Teil Zuckerlösung + 9 Teile einer durch Vermischen von 8 Teilen H_2SO_4 konz. und 1 Teil H_2O hergestellten Schwefels. 3 Min. im siedenden Wasserbade, nach Abkühlung 0,2 ccm 5% α-Naphthollösung 10 Min. warten.	Pentosen, Hexosen, Glukuronsäure rotviolette Farbe, Glykolaldehyd, Triosen, Aldehyde, Milchsäure braun
Naphtholreaktion II	1 Teil Zuckerlösung 0,1 cmm 2% Alkohol. α-Naphtholösung + 9 Teile 75volumprozentige H_2SO_4. Nach Umschütteln 15 Min. warten.	Von den Pentosen und Hexosen geben die Aldosen Rosafärbung, Fruktose blaue Farbe, Triosen violette mit Trübung, Aldehyde braune Farbe, Glukuronsäure und Thymonukleinsäure in ½prozentiger Lösung keine Farbe

Naphtholreaktion III	1 Teil Zuckerlösung + 0·1 10%ige α-Naphthollösung + 8 Teile konz. H_2SO_4 ohne Kühlung	Alle KH rote Farbe, Glukuronsäure braune
Diphenylaminreaktion I	2 Teile Zuckerlösung + 4 Teile des Diphenylaminreagenz (100 HC konz. + 80 Eisessig + 20 10%ige alkohol. Diphenylamin) 30 Min. im siedenden Wasserbade erhitzen	Hexosen blaue Farbe, Pentosen, Glukuronsäure, Aldehyde braune, Thymonukleinsäure violettrote
Diphenylaminreaktion II	Wie vorige, aber nur 1½ Min. erhitzen	Von den Hexosen geben Glukose und Fruktose, blaue, Galaktose violette, Mannose braune Farbe, Hexosediphosphorsäure blaue
Diphenylaminreaktion III	Wie vorige, aber nur 3 Min. erhitzen	Fruktose braune, Hexosediphosphorsäure violette Farbe, Glukose, Galaktose in 1%iger Lösung keine Farbe
Indolschwefelsäurereaktion nach Dische-Popper	1 ccm Zuckerlösung + 9 ccm 75volumprozentige Schwefelsäure + 0,3 ccm 1%ige alkohol. Indollösung 10 Min. im siedenden Wasserbade oder 3,5 ccm Zuckerlösung + 7 ccm konz. H_2SO_4 unter Kühlung + 0·3 ccm 1%ige Indollösung. 10 Min. erhitzen	Pentosen, Hexosen, Glukuronsäure braune Farbe
Phlorogluzinschwefelsäurereaktion	1 ccm Zuckerlösung + 5 ccm 60volumprozentige H_2SO_4 + 0,1 ccm 10%ige alkohol. Phlorogluzinlösung 2 oder 3 Min. in siedendem Wasserbade erhitzt	Pentosen in der ersten Minute des Erhitzens rote Farbe, dann braun werdend, Hexosen von Anfang an braun. Aldehyde ohne Erhitzen braune Farbe

Tabelle III

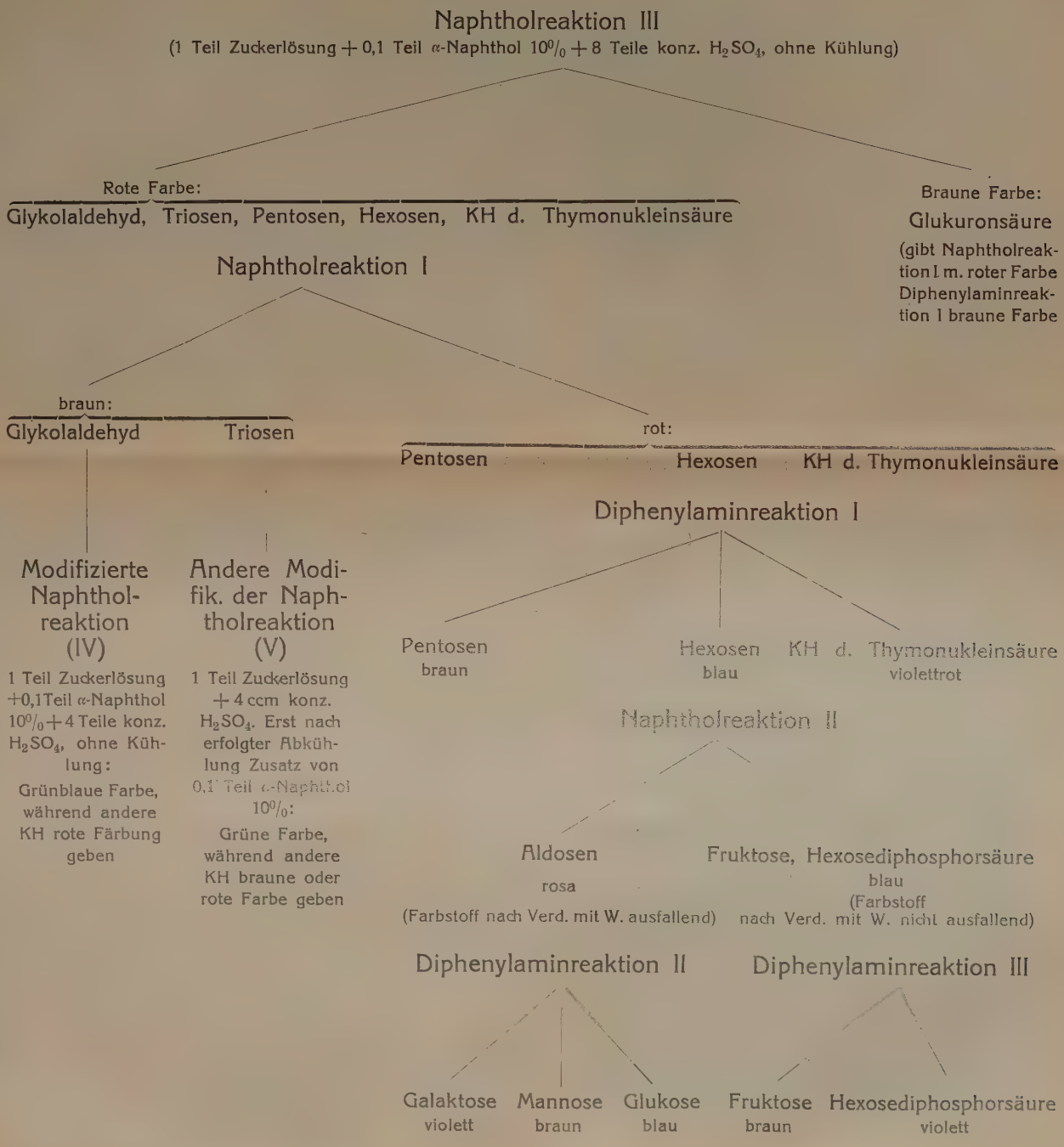
Relative Farbstärke, die verschiedene Hexosen bei den beschriebenen Reaktionen zeigen, wenn Farbstärke der Glukose gleich 1 gesetzt wird: Farbintensitätskoeffizienten a_1 und a_2.

Lauf. Nr.	Reaktion	Mannose	Galaktose	Fruktose
1	Naphtholreaktion I	0,4	0,5	1,30
2	Naphtholreaktion II	10	5	blau statt rosa
3	Diphenylaminreaktion I	1,1	0,60	ca. 5
4	Diphenylaminreaktion II	1	viel geringer als 0·60	50
5	Indolschwefelsäure-reaktion	0,70	0,75	1,25
6	Phlorogluzinschwefel-säurereaktion (nach 2 Minuten Erhitzen)	3,00	3,30	12,00
7	Dieselbe nach 3 Minuten Erhitzen	2,60	—	—

Betrachten wir jetzt die Gesamtheit der hier beschriebenen Tatsachen unter dem Gesichtspunkt, den wir schon oben in der Einleitung ins Auge gefaßt haben, nämlich inwieweit sie zum Nachweis von Zuckern in verdünnten Lösungen und Bestimmung verschiedener Zucker im Gemenge nebeneinander dienen können, so sehen wir zunächst, daß (bis auf die Phlorogluzinschwefelsäurereaktion) alle hier beschriebenen Reaktionen sich sehr wohl dazu eignen, um mit ihrer Hilfe einzelne Zucker in verdünnten reinen Lösungen zu bestimmen. Denn die Intensität der entwickelten Farbe ist bei all diesen Reaktionen dem Zuckergehalt proportional und der bei der kolorimetrischen Bestimmung gemachte maximale Fehler überschreitet nicht die bei den üblichen kolorimetrischen Methoden erreichbare Grenze. Nur die Phlorogluzinschwefelsäurereaktion bildet in bezug auf diesen letzten Punkt eine Ausnahme, da bei ihr aus irgend einem vorläufig nicht feststellbaren Grunde der Ausfall der Reaktionen bei ein und derselben Zuckerlösung, je nach der Probe, oft bis zu 10% Differenz zeigt.

Tabelle II.

Diese Tabelle ist nicht etwa als ein Trennungsgang zu verstehen, der die sichere Auffindung mehrerer Zucker nebeneinander in einem Gemenge gestattet, vielmehr soll sie nur dazu dienen, durch eine zweckmäßige Folge von Farbreaktionen einen einzelnen Zucker zu identifizieren.



Aber auch, wenn es sich darum handelt, Zucker im Gemenge miteinander und mit anderen Substanzen, die keine Kohlehydrate sind, zu bestimmen, können die hier beschriebenen Reaktionen sehr wohl verwendet werden. Man muß nur beachten, daß keine von diesen Reaktionen in jedem einzelnen Falle Vorteile gegenüber den anderen aufweist. Man wird vielmehr in jedem einzelnen Falle sich für die eine oder andere Reaktion entscheiden müssen, je nachdem, auf welche besonderen Umstände man in dem betreffenden Falle Rücksicht nimmt. Handelt es sich zum Beispiel um die Bestimmung einer Hexose neben Pentosen oder Glukuronsäure in nicht zu großer Konzentration, so wird der Diphenylaminsalzsäurereaktion vor allen anderen der Vorzug gegeben sein, da diese Farbreaktion von allen anderen hier beschriebenen die größte Spezifität aufweist, da nur die Hexosen die charakteristische blaue Farbe ergeben und die Beimengung nichtkohlehydratartiger Substanzen selbst in sehr großer Menge auf die Reaktion ohne Einfluß ist und Pentosen sowie Glukuronsäure, wenn ihre Konzentration nicht etwa 50% der Zuckerkonzentration übersteigt, ebenfalls keinen wesentlichen Einfluß auf den Ausfall der Reaktionen üben.

Nun ist aber die Diphenylaminsalzsäurereaktion verhältnismäßig wenig empfindlich, denn sie ist nur bis zu einer Konzentration von 0,005% für kolorimetrische Zwecke verwendbar. Handelt es sich also wieder darum, Bestimmungen in noch verdünnteren Lösungen als 0,005% zu machen, so wird man entweder zur Indolschwefelsäurereaktion oder der Naphtholreaktion I greifen müssen, die noch Lösungen von 0,0005% Glukose quantitativ zu bestimmen erlauben. Hiebei ist wieder zu beachten, daß die Naphtholreaktion I nur verwertbar ist, wenn neben dem Zucker keine erheblichen Mengen von Milchsäure vorhanden sind. Gegenüber der Indolschwefelsäurereaktion hat sie wieder den Vorteil, daß die tierischen Nukleinsäuren den Ausfall der Reaktion viel weniger beeinflussen als bei der ersteren. Handelt es sich wieder in einem anderen Falle zum Beispiel darum, zwei verschiedene Hexosen nebeneinander zu bestimmen, so wird man neben einer der drei erwähnten Reaktionen zur Naphtholreaktion II greifen, denn diese besitzt das größte Differenzierungsvermögen für die einzelnen Zucker, da ja die Galaktose fünfmal, die Mannose zehnmal so stark reagiert als die Glukose, während die Fruktose selbst in sehr verdünnten Lösungen, zum Unterschied von den Aldosen, eine intensive blaue Farbe zeigt. Aus dem Ausfall zweier verschiedener Farbreaktionen bei einer Lösung zweier verschiedener Zucker kann, wie weiter unten des näheren gezeigt werden soll, die Konzentration beider Zucker ermittelt werden.

Wie zur Bestimmung eignen sich aber die verschiedenen Reaktionen auch manchmal zum Nachweis eines Zuckers, vor allem aber zur Entscheidung der Frage, ob in einer Lösung neben einem bestimmten Zucker noch ein anderer vorhanden ist, von dessen Existenz man bisher nicht gewußt hat. Denn haben wir zum Beispiel in einer Lösung von 0,1% Glukose nur etwa 0,005% Mannose, so wird sich das Vorhandensein dieses letzteren Zuckers sofort verraten, wenn wir mit der betreffenden Lösung die Diphenylaminsalzsäure- wie auch anderseits die Naphtholreaktion II ansetzen und die dabei auftretenden Farben mit derjenigen einer Standardglukoselösung vergleichen. Denn die betreffende mannosehaltige Lösung wird bei der Diphenylaminsalzsäurereaktion beim Vergleich mit dem Glukosestandard eine Konzentration von 0,105 ergeben, bei der Naphtholreaktion II dagegen wird die mannosehaltige Lösung im Vergleich mit einem Glukosestandard eine Konzentration von 0,150 aufweisen; denn bei dieser Reaktion reagiert ja die Mannose zehnmal stärker als die Glukose. Da auch andere Zucker, zum Beispiel die Pentosen, viel stärker reagieren als die Glukose, so wird im allgemeinen durch die Diskrepanz zwischen der Naphtholreaktion II und den anderen erwähnten Reaktionen eine oft kleine Beimengung eines Zuckers zu einer Glukoselösung sich verraten. Die Anwendung dieses Verfahrens zum Beispiel auf das Blut zeigt tatsächlich, wie später noch mitgeteilt werden soll, daß in diesem neben der Glukose, also dem eigentlichen Blutzucker, sich noch andere befinden, wie zum Teil schon Best gezeigt hat. Statt der Naphtholreaktion II wird man für denselben Zweck sich der Phlorogluzinschwefelsäurereaktion bedienen müssen, zum Beispiel wenn es sich um an Eiweiß gebundene Zucker handelt, denn diese reagieren bei der Naphtholreaktion II fast gar nicht, wohl aber bei der Phlorogluzinreaktion, wobei ja auch die verschiedenen Zucker durch sehr verschiedene Reaktionsfähigkeit sich unterscheiden.

In den nachfolgenden Mitteilungen soll die Anwendung der hier besprochenen Farbreaktionen für die Bestimmung der Zucker in Organen und im Blute erörtert werden. In der vorliegenden Mitteilung soll nur noch die Bestimmung verschiedener Zucker im Gemenge miteinander in reiner Lösung ausführlich beschrieben und diskutiert werden.

D. Bestimmung verschiedener, nebeneinander in Lösung befindlicher Zucker.

Einfachheitshalber betrachten wir zunächst den Fall, bei dem sich zwei verschiedene Zucker in einer Lösung befinden. Es sei

x = Konzentration in Prozenten des einen Zuckers (des Zuckers A),
y = Konzentration in Prozenten des zweiten Zuckers (des Zuckers B).

a_1 = diejenige Zahl, welche angibt, wievielmal stärker der Zucker A reagiert bei einer der beiden Reaktionen (diese Reaktion bezeichnen wir als Reaktion 1),

a_2 = diejenige Zahl, welche angibt, wievielmal stärker der Zucker A reagiert bei der zweiten, der gewählten Reaktionen (Reaktion 2). (Reagiert der Zucker A schwächer als der Zucker B, so ist a_2 ein Bruch.) Ferner sei

c_1 = die bei der Reaktion 1 beim Vergleich mit der Standardlösung des Zuckers A gefundene Konzentration der untersuchten Lösung in Prozenten,

c_2 = dieselbe Größe bei der Reaktion 2.

Dann ist, wenn wir bei beiden Reaktionen der Standardlösung eine Lösung des Zuckers A (dessen Konzentration in der zur Untersuchung gelangenden Lösung = x ist) benützen

$$x + a_1 y = c_1$$
$$x + a_2 y = c_2$$

durch Auflösen dieser zwei Gleichungen mit zwei Unbekannten gelangt man zu den zwei Formeln:

$$y = \frac{c_1 - c_2}{a_1 - a_2} \qquad x = \frac{a_1 c_2 - a_2 c_1}{a_2 - a_2}$$

Für die praktische Verwendung des hier angegebenen Verfahrens ist es von größter Wichtigkeit, daß der Fehler, den man bei der Bestimmung von x und y auf diesem Wege begeht, im allgemeinen größer sein wird als der Fehler, der bei der einzelnen kolorimetrischen Ablesung vorkommen wird. Denn es ist ja zum Beispiel $y = \frac{c_1 - c_2}{a_1 - a_2}$ also der Differenz $c_1 - c_2$ proportional. Die Fehler, die man bei der Bestimmung von c_1 und c_2 macht, werden sich unter Umständen addieren und dazu noch auf eine Differenz beziehen (nämlich $c_1 - c_2$), die eventuell kleiner ist als jede einzelne der subtrahierten Zahlen.

Die Durchführung einer Fehlerrechnung hat ergeben, daß, wenn sich neben Glukose Mannose oder Fruktose befindet, bei Verwendung der Naphtholreaktion II im ersteren und Diphenylaminreaktion II im zweiten Falle der Fehler nicht wesentlich den gewöhnlichen Ablesungsfehler übersteigt, den man bei der Kolorimetrie der verwendeten Farbreaktionen macht. Wenn es sich um Galaktose neben Glukose handelt, wird der Fehler allerdings größer; wenn zum Beispiel die Konzentration

der Galaktose in der Lösung sich zur Konzentration der Glukose wie 1 : 2 verhält, dann kann der Fehler zirka zweimal so groß werden als der gewöhnliche Ablesungsfehler. Ganz allgemein ist der bei der Bestimmung von y gemachte Fehler um so größer, je geringer die Konzentration von y gegenüber x ist und je kleiner a_1. Dagegen spielt die Größe von a_2 eine geringe Rolle, wenn es gegen a_1 klein ist; man muß deshalb die zu verwendenden Reaktionen so wählen, daß das a_1 möglichst groß ist, das a_2 möglichst klein.

Auf Grund des hier Gesagten ergibt sich folgende Vorschrift für die Bestimmung der Mannose, Galaktose und Fruktose neben Glukose in reinen verdünnten Lösungen:

Hat man Mannose oder Galaktose neben Glukose in Lösung, so bestimmt man den „Gesamtzucker", als ob er nur aus Glukose bestünde, gegen einen Glukosestandard einerseits nach der Naphtholreaktion II, anderseits, je nach den Umständen, nach der Indolschwefelsäurereaktion oder der Diphenylaminreaktion I oder Naphtholreaktion I. Ist c_1 der bei der Naphtholreaktion II ermittelte, c_2 der bei einer der drei anderen ermittelte „Gesamtzuckerwert", so ist die Konzentration der Galaktose respektive Mannose $y = \frac{c_1 - c_3}{a_1 - a_2}$, wobei a_1 der Farbintensitätskoeffizient der Mannose respektive Galaktose bei Naphtholreaktion II, a_2 dieselbe Größe bei jeder der drei anderen Reaktionen ist, die Konzentration der Glukose $x = c_1 - a_1 y$.

Hat man Fruktose neben Glukose, so verfährt man ebenso, nur wählt man statt Naphtholreaktion II Diphenylaminreaktion II.

Die Vorschriften für die Ausführung der einzelnen Reaktionen findet man in Tabelle I. Bei den Diphenylaminreaktionen können die gefärbten Reaktionsflüssigkeiten direkt kolorimetrisch verglichen werden, bei allen anderen Reaktionen muß man den Vergleich nach vorheriger Verdünnung der stärkeren Probe mit der Leerprobe, wie bei der Beschreibung der Naphtholreaktion I angegeben, bewerkstelligen.

Beleganalysen.

A. Bestimmung von Mannose und Glukose im Gemisch nebeneinander. Zur Bestimmung wurden verwendet Naphtholreaktion II und Indolschwefelsäurereaktion.

1. Untersuchte Lösung enthielt 0,025% Glukose und 0,00125% Mannose, verglichen mit Standard 0,05 Glukose ergibt bei der Naphtholreaktion 0,0373% Zucker als Glukose berechnet, bei der Indolreaktion (gegen einen Standard von 0,0337% Glukose) 0,0267%.

Gefunden:

Konzentration der Mannose $y = \frac{0{,}0373 - 0{,}0267}{10 - 0{,}7} = 0{,}0106 : 9{,}3 = 0{,}00114\%$

Berechnet: 0,00125%
Fehler: − 9%

Glukose: Gefunden: $x = 0{,}0373 - 10 \cdot 0{,}00113 = 0{,}0373 - 0{,}0113 = 0{,}0260\%$
Berechnet: 0,250%
Fehler: + 4%

2. Lösung enthielt 0,025% Glukose, 0,0225 Mannose, gegen Standard 0,050 Glukose ergab sich bei der Naphtholreaktion 0,0518%, bei Indolreaktion gegen Standard 0,0337% 0,0267%.

Mannose: Gefunden: 0,00260%
Berechnet: 0,00250%
Fehler: + 4%
Glukose: Gefunden: 0,0258%
Berechnet: 0,0250%
Fehler: + 3,2%

3. Lösung enthielt 0,025% Glukose und 0,0050 Mannose. Naphtholreaktion gegen Standard 0,1% Glukose ergibt 0,071% Zucker als Glukose. Indolreaktion gegen Standard 0,0337 Glukose 0,0289%.

Mannose: Gefunden: 0,00518%
Berechnet: 0,00500%
Fehler: + 3,6%
Glukose: Gefunden: 0,0253%
Berechnet: 0,0250%
Fehler: + 1,2%

4. Lösung enthielt 0,025% Glukose und 0,010 Mannose. Naphtholreaktion gegen Standard 0,1% Glukose ergab 0,1256 Zucker als Glukose. Indolreaktion gegen Standard 0,337% 0,0324%.

Mannose: Gefunden: 0,010%
Berechnet: 0,010%
Fehler: 0%
Glukose: Gefunden: 0,0256%
Berechnet: 0,0250%
Fehler: 1,2%

B. Bestimmungen von Galaktose und Glukose im Gemisch nebeneinander. Zur Bestimmung wurden verwendet Naphtholreaktion II und Indolschwefelsäurereaktion.

1. Untersuchte Lösung enthielt 0,0250% Glukose und 0,00312 Galaktose verglichen mit Standard 0,0625% Glukose ergibt bei Naphtholreaktion 0,0413%, bei der Indolreaktion gegen Standard 0,0337% 0,267.

Gefunden: Konzentration der Galaktose 0,0034%
Berechnet 0,0031%
Fehler: + 0,7%

Gefunden: Konzentration der Glukose 0,0250%
Berechnet: 0,0250%
Fehler: 0%

2. Untersuchte Lösung enthielt 0,025% Glukose und 0,00625% Galaktose. Vergleich bei Naphtholreaktion II gegen Standard Glukose 0,0625 ergab 0,0567, bei Indolschwefelsäurereaktion 0,0308.

Gefunden: Konzentration der Galaktose 0,00694%
Berechnet 0,00625%
Fehler: + 11%

Glukose: Gefunden: 0,0220%
Berechnet: 0,0250%
Fehler: — 12%

3. Untersuchte Lösung enthielt 0,025% Glukose und 0,0125% Galaktose. Vergleich mit Naphtholreaktion II gegen Glukose-Standard von 0,1% ergab 0,0913%, mit Indolschwefelsäurereaktion 0,0355%.

Galaktose: Gefunden: 0,0131%
Berechnet: 0,0125%
Fehler: + 5%

Glukose: Gefunden: 0,0258%
Berechnet: 0,0250%
Fehler: + 3%

4. Untersuchte Lösung enthielt 0,025% Glukose und 0,025% Galaktose. Vergleich nach Naphtholreaktion II gegen Standard von 0,125% Glukose ergab 0,1462%, mit Indolschwefelsäure gegen Glukose 0,337% 0,455%.

Galaktose: Gefunden: 0,0235%
Berechnet: 0,0250%
Fehler: — 6%

Glukose: Gefunden: 0,0287%
Berechnet: 0,0250%
Fehler: + 15%

C. Bestimmungen von Fruktose und Glukose im Gemisch nebeneinander. Zur Bestimmung wurden verwendet Diphenylaminreaktion II und Indolschwefelsäurereaktion.

1. Untersuchte Lösung enthielt 0,025% Glukose und 0,00312 Fruktose. Mit der Diphenylaminreaktion gegen Standard 0,3125% Glukose ergab sich 0,1785%, mit der Indolschwefelsäurereaktion gegen Standard 0,025% 0,0295.

Fruktose: Gefunden: $\frac{0{,}1785 - 0{,}0295}{48{,}75} = 0{,}1590 = 0{,}00303\%$
Berechnet 0,00312%
Fehler: + 3%

2. Untersuchte Lösung enthielt 0,025% Glukose und 0,00625% Fruktose. Diphenylaminreaktion gegen Standard 0,3125 Glukose ergab 0,3450%, Indolreaktion gegen Standard 0,025% Glukose 0,0319%.

Fruktose: Gefunden: $\frac{0{,}3131}{48{,}75} = 0{,}00642\%$

Berechnet **0,00625%**

Fehler: + 2,7%

3. Untersuchte Lösung enthielt 0,025% Glukose und 0,0125% Fruktose gegen Standard 0,625% Glukose ergab Diphenylaminreaktion 0,663% Indolreaktion gegen Standard 0,025% ergab 0,0394%.

Fruktose: Gefunden: $\frac{0{,}6236}{48{,}75} = 0{,}0128\%$

Berechnet **0,0125%**

Fehler: + 2,2%

4. Untersuchte Lösung enthielt 0,025% Glukose und 0,025% Fruktose. Diphenylaminreaktion gegen Standard 0,625% Glukose ergab 1,310% gegen 0,025% bei Indolreaktion 0,0574%.

Fruktose: Gefunden: 0,2526 = **0,0256%**

Berechnet **0,0250%**

Fehler: + 2,4%

In den hier ohne Auswahl mitgeteilten 20 Analysenergebnissen war bei 15 der Fehler unter 15%, bei 2 unter 10% und nur bei 3 über 10% (einmal 15%), wobei das letzte Ergebnis bei zweckmäßiger Wahl der verwendeten Reaktionen sicherlich heruntergedrückt werden konnte.

Zusammenfassung.

Es sind eine Reihe von Verfahren ausgearbeitet worden, um durch Ausführung gewisser Farbenreaktionen in zweckmäßiger Kombination miteinander eine Reihe von Zuckern auch in Gemengen derselben qualitativ ermittelt, eventuell auch quantitativ bestimmen zu können.

Folgende Reaktionen:

mit α-Naphthol und Schwefelsäure,
mit Diphenylamin und Salzsäure,
mit Indol und Schwefelsäure (Dische-Popper),
mit Phlorogluzin und Schwefelsäure

in verschiedenen Modifikationen sind beschrieben und angewandt worden.

Es ist so möglich, zum Beispiel selbst geringe Beimengungen von Mannose, Fruktose, Galaktose sowie anderer Zucker noch in Konzentrationen von 0,001% neben größeren Mengen von Glukose nicht nur zu erkennen, sondern auch mit einer gewissen Genauigkeit zu bestimmen.

Bei richtiger Anwendung und zweckmäßiger Auswahl der Methoden dürften die Fehler 10% kaum überschreiten, in der Regel sich unter 5% halten.

Die hier mitgeteilten Erfahrungen gelten zunächst nur für Gemenge reiner Zuckerlösungen und von Lösungen, die neben Zuckern noch verschiedene im tierischen Körper vorkommende organische Substanzen enthalten. Inwieweit sie auf Blut, Körpersäfte und Organextrakte übertragen werden dürfen und nutzbar gemacht werden können, müssen erst weitere im Gange befindliche Untersuchungen lehren.

Literatur.

[1] Reicher u. Stein, Verhandl. d. Kongr. f. innere Med., 27, 401, 1910.
[2] L. Wacker, Z. f. physiol. Chemie, 67, 197.
[3] Forschbach u. Severin, Zentralbl. f. Physiol. u. Pathol. d. Stoffwechsels N. F. 6, 54.
[4] B. Glaßmann, Z. f. physiol. Chemie, 150, 36.
[5] Z. Dische u. H. Popper, B. Z. 175, 371, 1927.
[6] Z. Dische u. D. Laszlo, B. Z. 187, 344, 1927.
[7] S. Rothenfusser, Ch. C. 1909, II, 934.
[8] C. Neuberg, Z. f. physiol. Chemie 31, 564.

Bemerkungen zur Mikro-Methylimidbestimmung.

Von Paul Haas, Wien.

(Ausgeführt im Laboratorium der Rudolf-Stiftung, Wien.)

In seinem Lehrbuche der quantitativen organischen Mikroanalyse beschreibt Pregl[1] Mikromethoden zur Methoxyl- und Methylimidbestimmung, die auf Grund der Zeiselschen und Herzig-Meyerschen Methode ausgearbeitet wurden.

Die Methoxylbestimmung scheint in der Praxis keine Schwierigkeiten zu ergeben, wohl aber die Methylimidbestimmung. Auch ich kann bestätigen, daß bei den Versuchen zur Methoxylbestimmung in der Regel gut brauchbare Werte nach der Pregl schen Methode erhalten werden.

Wesentlich schwieriger liegen die Verhältnisse bei der Methylimidbestimmung. Aus diesen Gründen hat schon Edlbacher[2] verschiedene Verbesserungen dieser Bestimmung vorgeschlagen.

Eine wichtige Verbesserung liegt in der Anwendung eines Quarz-Zersetzungskolbens mit seiner ungleich längeren Haltbarkeit. Dieser Quarzkolben ist überdies untergreifend mit einem Schliff und Federklammern an der restlichen Apparatur befestigt, wodurch die Reinigung erleichtert und die Zerbrechlichkeit des ganzen Apparates stark vermindert wird.

Der Quarzkolben ermöglicht ein Bad von Sand oder Eisenfeile statt des schmutzigen, entzündlichen und übelriechenden Vaselinbades.

Statt eines Waschgefäßes sind deren zwei angebracht, da Edlbacher erst dadurch einen H_2S- und HJ-freien Gasstrom in die Silberlösung einleiten konnte. Die Waschgefäßchen sind mit einer Aufschwemmung von rotem Phosphor in 5%iger $CdSO_4$-Lösung gefüllt.

Die Einwirkungsdauer der Jodwasserstoffsäure und die Temperaturgrenzen, die dabei einzuhalten sind, werden genau festgelegt, um so mehr als (nach dem Vorgange von Pregl) eine gleichzeitige Bestimmung von OCH_3 und NCH_3 angestrebt wird. Bei den nachstehend angegebenen Analysen habe ich mich streng an diese Vorschriften gehalten.

Die wichtigste Neuerung Edlbachers bestand aber darin, zwei bis drei Tropfen einer salzsäurehaltigen Goldchloridlösung als Katalysator zuzusetzen, wodurch an Stelle von zwei bis vier Destillationen nur eine einzige nötig sein sollte.

---

[1] 2. Aufl., 1923, S. 178.

[2] Zeitschr. f. physiol. Chem. 101, 278 bis 287, Jahrg. 1918.

Somit wollte Edlbacher vor allem erreichen, die Dauer der Analyse zu verkürzen und die Bildung schwarzer Niederschläge im Einleitungsrohr zu vermeiden. Er führt diese auf Silbersulfid zurück, herstammend vom Schwefelwasserstoff, der die käufliche Jodwasserstoffsäure (spezifisches Gewicht 1,7) verunreinigt. Auch sollte mitgerissenes HJ unbedingt zurückgehalten werden. Das soll nach Edlbacher nicht der Fall sein, wenn man nur ein Waschgefäß verwendet.

Meixner und Kröcker[3] widmen der Methoxyl- und Methylimidbestimmung einen kleinen Abschnitt, woraus die Neuerungen ersichtlich sind, daß sie statt des Vaselinbades ein Graphitbad anwenden. Um ein Stoßen beim Sieden zu vermeiden, setzen sie Graphitpulver zu, was nach meiner Ansicht eine Kondensation von Tropfen im abführenden Rohr des Quarzkolbens, Abtropfen und stoßweises Sieden beim Auftreffen auf den heißen Kolbengrund nicht verhindern dürfte. Diese später zu beschreibende Erscheinung tritt vor dem vollständigen Leerdestillieren des Kolbens auf. — Das Einführen der Substanz in Stanniolhütchen wurde von Meixner und Kröcker verlassen, um die HJ-Säure nicht zu schwächen; wie diese Autoren die Einwage in den Kolben ohne Substanzverlust vornehmen, ist leider nicht angegeben. Zum Zwecke radikaler Reinigung der Dämpfe von H_2S schlugen sie 50%ige $CdSO_4$-Lösung vor.

Ich habe abwechselnd je einen Methylimidapparat mit einer und mit zwei Waschvorrichtungen benutzt und gefunden, daß in den allermeisten Fällen nur sehr geringe Schwärzungen im Einleitungsrohr auftreten, wenn das CO_2 am Anfang sehr vorsichtig durchgeleitet wird. In seltenen Fällen bleiben diese Schwärzungen aus. Deutliche schwarze Niederschläge in der Eprouvette, oberhalb 100°, kommen sehr selten vor und dann in unvorhergesehener Weise. Die erwähnte Erscheinung zeigt sich fast ausnahmslos unabhängig von der Verwendung eines oder zweier Waschgefäße.

Vor allem ist es aber trotz Anwendung von Goldchloridlösung nie gelungen, mit einer Destillation das Auslangen zu finden; immer waren zwei bis drei nötig, gleichgültig, ob man die Goldchloridlösung mit HCl ansäuerte oder nicht, ob man an ihrer Stelle Phenol oder Essigsäureanhydrid (nach Analogie der OCH_3-Bestimmung) oder beides zusetzte.

Diese Zusätze begründete ich damit, daß die Haupteinwirkung der HJ-Säure bei einer Temperatur unter 200° stattfindet. In diesem Temperaturbereich sollten das Phenol und das Essigsäureanhydrid die Analysensubstanzen in Lösung halten und so der HJ-Einwirkung leichter

[3] Mikrochemie V, 1927, S. 120.

zugänglich machen, beziehungsweise, ähnlich wie bei der OCH_2-Bestimmung, katalytisch wirken.

Schließlich konnte auch die gleichzeitige Anwendung von Goldchlorid und Phenol oder $(CH_3COO)_2O$ — oder von allen drei Reagentien zugleich — mehrmalige Destillationen nicht entbehrlich machen.

Obwohl nicht nur Kokain, sondern auch Atropinsulfat, Kaffein und Theobromin zur Analyse gelangten, die letzteren drei also Körper, die OCH_3-frei sind, wurde in allen Fällen so vorgegangen, wie es Edlbacher für methoxylhaltige Methylimidkörper vorschreibt, um der Jodwasserstoffsäure Gelegenheit zu geben, auf die Substanz möglichst lange einzuwirken.

Ich lasse jetzt eine Beschreibung der Bestimmung folgen.

I. Destillation: Ich erhitzte den in einem tiefen Kupfertopf (Höhe : Lichtweite = 2 : 1) bis über die Gabelung im Sand vergrabenen Kolben zuerst mit starker Flamme auf 40° (manchmal 60°), stellte dann den Brenner fort, worauf die Temperatur auf zirka 100° stieg, erhitzte hierauf mit kleiner Flamme weiter bis 160 bis 200°, wozu 20 bis 30 Minuten nötig sind. Bei 200° wurde die Flamme vergrößert und mit dieser Flamme erwärmt, bis die Temperatur von 300° erreicht war. Bei ± 270 bis 310° ist der Quarzkolben fast leerdestilliert. Es treten weiße Rauchschwaden auf, die oft bei ganz langsamem Blasentempo die Silberlösung durchdringen. Bald darauf beginnt sich die Doppelverbindung auszuscheiden. Die Temperatur von 300 bis 360° (beziehungsweise die Temperatur oberhalb des Beginnes der Ausscheidung) wurde 45 Minuten lang beibehalten, bei geringhaltigen Substanzen (Kokain) eine halbe bis dreiviertel Stunden.

Bei der II. und III. Destillation wird die Temperatur von 200° früher erreicht, da der Sand noch warm ist. Die Zersetzungstemperatur von 300 bis 360° ließ ich nur eine halbe, in vielen Fällen dreiviertel Stunden lang einwirken, je nach der Menge des zuletzt erhaltenen Niederschlages.

Vom Kokain wurde jedes Methyl je zweimal destilliert.

Das Blasentempo wurde ohne eingesenkten, gekerbten Glasstab, nur durch einen Schraubenquetschhahn derart geregelt, daß eine bis zwei Blasen zu gleicher Zeit in der Absorptionseprouvette zu sehen waren. Während des Versuches muß die Quetschhahnöffnung mehrmals vergrößert werden, im Maße, wie die Säure überdestilliert. In den Gummischlauch eingelegter Bindfaden wird in kürzester Zeit durch Salzsäurenebel zerfressen, verstopft also den Gasdurchgang. Daher wurde diese Maßregel aufgegeben.

Ein vollkommen regelmäßiger Gasdurchgang ist beim Uebergang

der letzten Flüssigkeitsanteile nicht möglich, vor allem bei der II. und III. Destillation. Kleine Säureanteile kondensieren sich im aufsteigenden Rohr des Kolbens, fallen in den heißen Kolben, verdampfen dort plötzlich, kondensieren sich wieder, welches Spiel sich sehr oft wiederholen kann. Eine jede dieser Verdampfungen ist mit einem Stoßen verbunden. Dies ist natürlich von der Regelung des CO_2-Stromes ganz unabhängig (wäre also auch durch einen Kerbstab nicht zu beheben) und ist wohl der Hauptgrund dafür, daß HJ-Dämpfe mitgerissen werden. Will man diesem Mißstand durch Anwendung einer größeren Menge Waschflüssigkeit begegnen, so wird durch das Stoßen der letzten Flüssigkeitsanteile im Kolben Waschflüssigkeit in die Absorptionseprouvette übergeschleudert, so daß die Bestimmung ganz verdirbt. — Durch vorsichtiges Erwärmen des aufsteigenden Kolbenrohres läßt sich diese Kondensation mit ihren Folgen rasch, aber leider nicht immer endgültig beheben.

Nach Löschen der Flamme und Senken des Sandbades wurde gewartet, bis die Temperatur unter 120° gesunken war, bevor man ans Ausspülen des Einleitungsrohres ging.

Als Wasserbad diente ein Becherglas mit Wasserbadeinsatz[4].

Die Weiterverarbeitung der Fällungen erfolgte genau nach Pregl-Edlbacher.

In der vorliegenden Arbeit habe ich mir zur Aufgabe gemacht, systematisch die Fehlerquellen und Schwierigkeiten dieser Methode aufzudecken, da es nicht gelungen ist, selbst nach den Edlbacherschen Verbesserungen, einwandfreie Werte zu erhalten.

Experimenteller Teil:

Versuchsreihe I:

Von Atropinsulfat wurden nur vier Methylimidbestimmungen ausgeführt, von denen hier eine als Beispiel angeführt sei. Die Destillate, meist 2, wurden vereinigt gewogen. Zusätze sind nicht berücksichtigt.

Tabelle I

Lauf. Nr.	mg Einwage	mg AgCl Auswage	% CH_3. In Klammern: Abweichung v. d. Theorie	Destillationen	Bemerkungen
10	3,080	I+II 1,771	3,68 (−0,20)	3 ausgeführt	Nur die ersten beiden Destillationen gewogen

[4] Mikrochemie II, 1924, S. 191.

Versuchsreihe II:

Nun wurde Kaffein (Kahlbaum) der Analyse unterworfen.

Es wurden mit jedem Zusatz je zwei Versuche in einem Apparat mit zwei Waschgefäßen und je zwei Versuche in einem Apparat mit einem Waschgefäß gemacht. Goldchlorid wurde nicht zugesetzt. Bei den ersten drei Versuchen wurde außer 1,6 ccm Säure und der entsprechenden Menge NH_4J nichts zugesetzt. Die nächste Reihe (von vier Bestimmungen) wurde mit Zusatz von drei bis vier Kristallen Phenol ausgeführt, die nächsten vier Bestimmungen mit Zusatz von drei Tropfen $(CH_3COO)_2O$. Schließlich wurden noch vier Bestimmungen unter Zusatz von drei bis vier Kriställchen Phenol und drei Tropfen $(CH_3COO)_2O$ ausgeführt.

Von der zweiten Bestimmung mit Essigsäureanhydridzusatz angefangen (lauf. Nr. 26) wurde als Waschwasser über $AgNO_3$ redestilliertes Aqu. dest. (mit Zusatz von einigen Kubikzentimetern HNO_3 chlorfrei Kahlb.) und als Hütchenmaterial dickeres Stanniol verwendet.

Die dickeren Stanniolhütchen wurden bis Nr. 33 inklusive (erster Versuch der Goldchlorid-Versuchsreihe) angewandt. Dabei zeigt sich, daß entweder durch Wegnahme der wirksamen Säure oder durch Okkludieren infolge des reichlichen Kristallkuchens oder schließlich aus beiden Gründen die Endwerte immer zu niedrig ausfallen.

Bei den vorhergehenden Bestimmungen (Nr. 18 bis 25 inklusive) wurde keine Konstanz der Werte beobachtet. Es bestanden in den Endwerten Abweichungen von der Theorie von −5,05 bis +8,51%, durchschnittlich von +1,91%, obwohl meist nur zwei Destillationen ausgeführt wurden. (Theoretischer CH_3-Gehalt: 23,22%.)

Von Nr. 26 an bis zum Schluß der Arbeit wurde jede Bestimmung dreimal destilliert und jeder Niederschlag gesondert gewogen. Bei Kokain wurde anders vorgegangen.

Die in dickeren Stanniolhütchen analysierten Substanzmengen ergaben durchwegs zu tiefe Endresultate, und zwar mit $(CH_3COO)_2O$-Zusatz im Durchschnitt −1,43% der Theorie, mit den Extremen −0,45% und −3,28%.

Mit $(CH_3COO)_2O$ + Phenol wurden ebenfalls zu tiefe Endwerte erzielt. Hier ist der Einfluß des dicken Stanniols besonders auffallend. Die Differenzen von der Theorie schwanken von −0,96 bis −2,80% und betragen im Mittel −2,13%.

Es ist hervorzuheben, daß bei fast allen Versuchen der Reihe II bei Beginn der I. Destillation (von 100 bis 160°) minimale Schwärzungen bis deutliche schwarze Niederschläge im Einleitungsrohr auftraten, die durch HNO_3 nie ganz zersetzt und daher mitgewogen wurden, also an sich zu hohe Werte hätten bedingen müssen.

Der Beginn der Ausscheidung der weißen Doppelverbindung lag zwischen 256° und 337°, meist unter 300°. Verwendung von 1-Phosphor- und 2-Phosphor-Apparaten ergibt keinen Vorteil zugunsten der letzteren.

Tabelle II.

Lauf. Nr.	mg Einwage	mg AgJ-Auswagen	% Methyl. In Klammern: Abweichung v. d. Theorie	Destillationen	Bemerkungen
20	5,690	I 14,002	15,75 (—7,47)	I 1 St. 10′	2-P-Gefäße, kein Zusatz
		I+II 15,265	17,17 (—5,05)	II 1 St. 5′	niedrigster Wert der Reihe
22	3,294	I 12,171	23,64 (+0,42)	I 1 St. 17′	2-P-Gefäße
		I+II 14,548	28,26 (+5,04)	II 1 St. 2′	Höchster Wert der Reihe
		I+II+III 16,336	31,73 (+8,51)	III 1 St. 10′	
23	2,430	I 9,055	23,84 (+0,62)	I 1 St. 15′	1-P-Gefäß,
		I+II Nicht gewogen		II 1 St. 10′	Phenol
24	4,223	I 12,420	18,82 (—4,40)	I 1 St. 40′	2-P-Gefäße,
		I+II 15,500	23,49 (+0,25)	II 1 St. 5′	Phenol
26*	6,386	I 15,177	15,21 (—8,01)	I 1 St. 33′	2 P, Essigsäureanhydrid
		I+II 18,820	18,86 (—4,36)	II Keine Zeitang.	
		I+II+III 19,898	19,94 (—3,28)	III 1 St. 0′	Fällungsbeginn 270°
27	5,018	I 14,771	18,84 (—4,38)	I 1 St. 41′	1 P, Essigsäureanhydrid
		I+II 16,782	21,40 (—1,82)	II 1 St. 2′	
		I+II+III 17,772	22,66 (—0,56)	III 1 St. 10′	Fällungsbeginn 282°
28	5,535	I 15,723	18,16 (—4,06)	I 1 St. 40′	2 P, $(CH_3COO)_2O$
		I+II 18,693	21,61 (—1,62)	II — 46′	
		I+II+III 19,648	22,77 (—0,45)	III 1 St. 26′	Fällungsbeginn 308°
30	8,261	I 16,686	12,92 (—10,30)	I 1 St. 21′	2 P, $(CH_3COO)_2O$ +Phenol
		I+II 24,560	19,02 (—4,20)	II 1 St. 45′	
		I+II+III 26,372	20,42 (—2,80)	III 1 St. 10′	Fällungsbeginn 337°

* Von Nr. 26 an wurde über $AgNO_3$ redestilliertes Wasser und dickere Zinnfolie verwendet.

Lauf. Nr.	mg Einwage	mg AgJ-Auswagen	% Methyl. In Klammern: Abweichung v. d. Theorie	Destillationen	Bemerkungen
31	10,803	I 24,459	14,49 (—8,73)	I 1 St. 57′	1 P, $(CH_3COO)_2O$ +Phenol
		I+II 32,601	19,31 (—3,91)	II 1 St. 16′	
		I+II+III 34,973	20,72 (—2,50)	III 1 St. 23′	Fällungsbeginn 256°
32	7,773	I 18,019	14,83 (—8,39)	I 2 St. 5′	2 P, $(CH_3COO_2)O$ +Phenol
		I+II 22,654	18,65 (—4,57)	II 1 St. 41′	
		I+II+III 25,479	20,97 (—2,25)	III 1 St. 31′	Fällungsbeginn 265°

Versuchsreihe III:

Mit Kaffein (Kahlbaum) wurden je zwei Bestimmungen mit dem 1-P-Apparat, je zwei mit dem 2-P-Apparat gemacht. Goldchlorid wurde immer zugesetzt, im übrigen die Zusätze wie bei Reihe II verwendet, also erst kein Zusatz, dann Phenol, dann Essigsäureanhydrid und schließlich beides zugleich.

Schwärzungen im Einleitungsrohr traten nur in belangloser Weise, in drei Fällen überhaupt nicht auf. Es ist interessant, daß zwei Fälle ohne Schwärzung gerade beim 1-P-Apparat auftraten!

Die Ausscheidungstemperaturen der Doppelverbindung lagen zwischen 250° und 342°, meist über 300°.

Der Einfluß des dicken Stanniols zeigt sich deutlich bei der ersten der vier Bestimmungen, die mit Goldchlorid ohne sonstigen Zusatz gemacht wurden. Die erste Bestimmung weist einen Endwert von —2,29% der Theorie auf, die anderen drei (mit dünnem Stanniol) bewegen sich zwischen —0,79% und —0,42% der Theorie.

Zusätze bedingen eine größere Unregelmäßigkeit in den Endresultaten. In der Phenolreihe sind die Extreme —1,65% und +0,23%, die mittlere Differenz von der Theorie beträgt —0,85%.

In der $(CH_3COO)_2O$-Reihe betragen die Extreme —1,37% und + 1,35%, die mittlere Differenz ist — 0,23%. In der $(CH_3COO)_2O$ + Phenol-Reihe sind die Extreme +1,85% und —1,19%, die mittlere Differenz +0,13%.

Aus dieser Reihe ersieht man klar, daß das Goldchlorid mehrfache Destillationen keinesfalls entbehrlich machen konnte.

Tabelle III.

Lauf. Nr.	mg Einwage	mg AgJ-Auswagen	% CH_3. In Klammern: Abweichung v. d. Theorie	Destillationen	Bemerkungen
33	6,894	I 16,530	15,34 (−7,88)	I 1 St. 54′	1 P, $AuCl_3$, kein Zusatz
		I+II 21,088	19,57 (−3,65)	II 1 St. 18′	Fällungsbeginn 250°
		I+II+III 22,555	20,93 (−2,29)	III 1 St. 40′	
34*	4,592	I 13,410	18,69 (−4,53)	I 2 St. 12′	2 P, $AuCl_3$, kein Zusatz
		I+II 14,928	20,88 (−2,34)	II 1 St. 18′	Fällungsbeginn 308°
		I+II+III 16,094	22,43 (−0,79)	III Keine Zeitang.	
35	5,669	I 16,556	18,69 (−4,53)	I 1 St. 55′	1 P, $AuCl_3$, kein Zusatz
		I+II 19,285	21,77 (−1,45)	II 1 St. 20′	Fällungsbeginn 267°
		I+II+III 20,196	22,80 (−0,42)	III 1 St. 9′	
36	4,163	I 12,851	19,75 (−3,47)	I 1 St. 59′	2 P, $AuCl_3$, kein Zusatz
		I+II 14,067	21,62 (−1,60)	II 1 St. 12′	Fällungsbeginn 338·5°
		I+II+III 14,801	22,75 (−0,47)	III 2 St. 2′	
38	7,645	I 21,922	18,35 (−4,87)	I 2 St. 5′	2 P, $AuCl_3$, Phenol
		I+II 25,067	20,98 (−2,24)	II 1 St. 5′	Fällungsbeginn 293° Minimalwert der Reihe
		I+II+III 25,777	21,57 (−1,65)	III — 45′	
39	6,935	I 20,644	19,05 (−4,17)	I 1 St. 57′	1 P, $AuCl_3$, Phenol
		I+II 23,154	21,36 (−1,86)	II 1 St. 4′	Fällungsbeginn 291°
		I+II+III 24,374	22,49 (−0,73)	III 1 St. 40′	
42	3,681	I 10,777	18,73 (−4,49)	I 1 St. 58′	2 P, $AuCl_3$, Phenol
		I+II 12,495	21,72 (−1,50)	II 1 St. 33′	Fällungsbeginn 342°
		I+II+III 13,493	23,45 (+0,23)	III 1 St. 36′	
44	3,084	I 9,223	19,14 (−3,08)	I 1 St. 54′	1 P, $AuCl_3$, $(CH_3COO)_2O$
		I+II 10,752	22,31 (−0,91)	II 1 St. 48′	Fällungsbeginn 335°
		I+II+III 11,094	23,02 (−0,20)	III 1 St. 33′	

* Ab Versuch 34 bis zum Schluß der Untersuchungen wurde nur dünnes Stanniol verwendet.

Lauf. Nr.	mg Einwage	mg AgJ-Auswagen	% CH_3. In Klammern: Abweichung v. d. Theorie	Destillationen	Bemerkungen
46	4,328	I 13,516	19,98 (−3,24)	I 2 St. —′	1 P, $AuCl_3$, $(CH_3COO)_2O$ +Phenol
		I+II 15,054	22,26 (−0,96)	II 1 St. 20′	
		I+II+III 16,079	23,77 (+0,55)	III 1 St. 40′	Fällungsbeginn 320°
48	4,778	I 14,498	19,42 (−3,80)	I 2 St. 29′	1 P, $AuCl_3$, $(CH_3COO)_2O$ +Phenol
		I+II 16,108	21,57 (−1,65)	II 1 St. 59′	
		I+II+III 16,817	22,52 (−0,70)	III 1 St. 45′	Fällungsbeginn 327°
49	5,866	I 18,507	20,19 (−3,03)	I 2 St. 6′	2 P, $AuCl_3$, $(CH_3COO)_2O$ +Phenol
		I+II 20,756	22,64 (−0,58)	II 1 St. 47′	
		I+II+III 22,979	25,07 (+1,85)	III 1 St. 50′	Fällungsbeginn 316° Maximalwert der Reihe

Versuchsreihe IV:

Versuche mit Kokain (freie Base, Heilmittelstelle pur.).

Diese Substanz wurde mit jedem Zusatz je einmal im 1-Phosphor- und im 2-Phosphor-Apparat analysiert, in der Reihenfolge: Kein Zusatz, $(CH_3COO)_2O$, Phenol, Phenol + $(CH_3COO)_2O$.

Ich erhielt die erste Trübung des OCH_3 bei 140 bis 190°. Von diesem Punkte an erwärmte ich 20 bis 30 Minuten lang, wobei die Temperatur höchstens bis 220° stieg. Nach dieser Zeit wurde die Flamme weggestellt, das Sandbad gesenkt, bis die Temperatur unter 120° gesunken war — und das Einleitungsrohr sorgfältig abgespült. Der erhaltene OCH_3-Niederschlag ist mit Ia bezeichnet.

Beim neuerlichen Erwärmen tritt sogar schon im OCH_3-Bereich ein weißer, hauch- oder fleckenförmiger Beschlag im Einleitungsrohr auf, der mir aber nur in einem Fall so bedeutend erschien, daß ich seinetwegen die Bestimmung neuerlich unterbrach und die ganz minimale Trübung beziehungsweise Fällung als Ia′ zum Wert Ia addierte.

Es wurde nun weiter erhitzt, bis bei einer Temperatur von rund 325 bis 345° die erste NCH_3-Fällung auftrat. Diese ist im allgemeinen geringer als die OCH_3-Fällung (obwohl theoretisch gleiche Werte zu erwarten sind und die hohe Temperatur 45 Minuten lang beibehalten wurde). Diese erste NCH_3-Fällung wurde als Ib bezeichnet.

Nach dem Abkühlen und Rohrabspülen wird die Bestimmung wiederholt, wobei die Beschläge des Einleitungsrohres nie stark genug sind, daß sich eine Unterbrechung der Bestimmung und Verarbeitung der geringen Fällung als IIa verlohnt. Beim Erhitzen auf über 300° treten immer starke Trübungen, sogar Fällungen auf, die als IIb bezeichnet und zum NCH_3 hinzugeschlagen werden. Die hohe Temperatur wurde 30 bis 45 Minuten lang beibehalten.

Es ist zu beachten, daß man das Temperaturgebiet über 200° ja nicht zu stürmisch durchlaufen soll; sonst wird die Ausscheidungstemperatur so hoch hinaufgerückt, daß die Substanz sich schon derart zersetzt, daß ein großer Teil des Methyls nicht mehr gewonnen werden kann. Zum Beispiel ergab eine Bestimmung, welche die erste Trübung bei 370° aufwies, einen CH_3-Wert (am N) von 3,40% = (—1,56% der Theorie!) gegenüber 4,49% = (—0,47% der Theorie) CH_3, gebunden an O.

Bei den Ia-Bestimmungen traten meist (im Bereich von 120 bis 160°) geringe Schwärzungen im Einleitungsrohr auf, unabhängig vom Apparat. Diese beeinflußten das Resultat wohl kaum.

Die Extreme für OCH_3 betrugen 3,94% und 4,58% (= —0,97% und —0,38% der Theorie). Die mittlere Differenz von der Theorie war (—0,67%).

Die Extreme für NCH_3 (Ib) betrugen (—1,59% und —0,27%) der Theorie. Die mittlere Differenz von der Theorie war (—0,97%).

Die Extreme für NCH_3 (Ib + IIb = Endwert) betrugen (—0,94% und + 0,52%) der Theorie. Die mittlere Differenz von der Theorie war (—0,35%).

Die organischen Zusätze beeinflußten die Reaktion nicht merklich.

Tabelle IV.

Lauf. Nr.	mg Einwage	mg AgJ-Auswagen	% CH_3. In Klammern: Abweichung v. d. Theorie	Destillationen	Bemerkungen
55	3·838	CH_3 an O			
		Ia 2,593	4,32 (—0,64)	Ia — 50′	1 P, keine Zusätze
		CH_3 an N			Fällungsbeginn OCH_3 140—150°
		Ib 2,673	4,46 (—0,50)	Ib 1 St. 27′	Fällungsbeginn NCH_3 328°
		Ib+IIb 3,289	5,48 (+0,52)	IIb 2 St. 7′	

Lauf. Nr.	mg Einwage	mg AgJ-Auswagen	% CH_3. In Klammern: Abweichung v. d. Theorie	Destillationen	Bemerkungen
57	7·454	CH_3 an O			
		Ia 5,042	4,38 (−0,58)	Ia 1 St. 5′	1 P, $(CH_3COO)_2O$
		CH_3 an N			Fällungsbeginn OCH_3 ca. 155°
		Ib 4,727	4,06 (−0,90)	Ib 1 St. 39′	Fällungsbeginn NCH_3 323°
		Ib+IIb 5,356	4,60 (−0,36)	IIb 2 St. —′	
58	2·329	CH_3 an O			
		Ia 1,666	4,58 (−0,38)	Ia 1 St. 12′	2 P, Phenol
		CH_3 an N			Fällungsbeginn OCH_3 171°
		Ib 1,344	3,69 (−1,27)	Ib 2 St. 3′	Fällungsbeginn NCH_3 336°
		Ib+IIb 1,680	4,62 (−0,34)	IIb 2 St. 21′	
59	3·637	CH_3 an O			
		Ia 2,500	4,40 (−0,56)	Ia 1 St. 12′	
		Ia+IIa 2,582	4,54 (−0,42)	IIa — 38′	1 P, Phenol
		CH_3 an N			Fällungsbeginn OCH_3 184°
		Ib 2,265	3,99 (−0,97)	Ib 1 St. 51′	Fällungsbeginn NCH_3 325°
		Ib+IIb 2,455	4,32 (−0,64)	IIb — 55′	
60	4·026	CH_3 an O			
		Ia 2,481	3,94 (−1,02)	Ia 1 St. 11′	2 P, Phenol+ $(CH_3COO)_2O$
		CH_3 an N			Fällungsbeginn OCH_3 180°
		Ib 2,951	4,69 (−0,27)	Ib 1 St. 27′	Fällungsbeginn NCH_3 346°
		Ib+IIb 3,354	5,33 (+0,37)	IIb 1 St. 31′	
61	2·505	CH_3 an O			
		Ia 1,759	4,49 (−0,47)		1 P, Phenol+ $(CH_3COO)_2O$
		CH_3 an N			Fällungsbeginn OCH_3 181°
		Ib 1,331	3,40 (−1,56)		Fällungsbeginn NCH_3 über 370°
		Ib+IIb	Verdorben		

Versuchsreihe V:

Versuche mit Kokain (freie Base, Heilmittelstelle pur.).

Die Bestimmungen decken sich mit denen der vorhergehenden Reihe, mit dem Unterschiede, daß durchwegs drei Tropfen $AuCl_3$-Lösung zugesetzt wurden. Manche Bestimmungen mußten wiederholt werden.

Zum Unterschied von der vorigen Reihe waren die zweiten OCH_3-Destillate (= IIa) meist nicht zu vernachlässigen.

Ia. Die Extreme der Differenzen von der Theorie lagen zwischen (—0,47%) und (—0,78%). Die mittlere Differenz betrug (—0,61%).

Ia + IIa. Extreme (—0,51%) und (—0,08%).

Mittlere Differenz (—0,29%).

Ib. Extreme (—0,99%) und (+0,07%).

Mittlere Differenz (+0,63%).

Oft traten gar keine Schwärzungen zu Beginn der Destillationen auf, aber selbst in einem Falle, als deutlicher schwarzer Niederschlag auftrat, war der CH_3-Gehalt (gebunden an O) 4,18% für Ia und 4,67% für Ia + IIa. (Theorie: 4,96%). Es zeigte sich im allgemeinen, daß der Goldchloridzusatz die in der ersten Destillation übergehenden Methylmengen erhöht, aber nicht in dem Maße, daß eine zweite Destillation überflüssig wird.

In der goldchloridfreien Reihe betragen die mittleren Differenzen von der Theorie bei den OCH_3-Destillaten (Ia) (—0,67%), in der Goldchloridreihe (—0,61%); bei Methylimid (Ib) ist der Unterschied stärker: In der goldchloridfreien Reihe haben wir eine mittlere Differenz von der Theorie von (—0,97%), in der Goldchloridreihe eine solche von (—0,63%).

Nach der zweiten OCH_3-Destillation ergeben sich mit Goldchloridzusatz ohne Ausnahme fast richtige, nach der zweiten NCH_3-Destillation viel zu hohe Werte.

Der Zusatz der organischen Substanzen ändert das Resultat nicht vorteilhaft, gleichzeitige Verwendung von Essigsäureanhydrid und Phenol dürfte das Endergebnis geradezu verschlechtern.

Tabelle V:

Lauf. Nr.	mg Einwage	mg AgJ-Auswagen	% CH_3. In Klammern: Abweichung v. d. Theorie	Destillationen	Bemerkungen
64	2,987	CH_3 an O			
		Ia 1,951	4,18 (−0,78)	Ia 1 St. 10′	1 P, $AuCl_3$, kein Zusatz
		Ia+IIa 2,181	4,67 (−0,29)	IIa — 43′	
		CH_3 an N			Fällungsbeginn OCH_3 182°
		Ib 1,874	4,02 (−0,94)	Ib 1 St. 41′	Fällungsbeginn NCH_3 304°
		Ib+IIb 2,336	5,00 (+0,04)	IIb 1 St. —′	
65	2,965	CH_3 an O			
		Ia 2,052	4,43 (−0,53)	Ia — 49′	2 P, $AuCl_3$, $(CH_3COO)_2O$
		Ia+IIa 2,137	4,61 (−0,35)	IIa 1 St. 36′	
		CH_3 an N			Fällungsbeginn OCH_3 174°
		Ib 2,015	4,35 (−0,61)	Ib — 54′	Fällungsbeginn NCH_3 345°
		Ib+IIb 2,492	5,38 (+0,42)	IIb 1 St. 02′	
67	3,537	CH_3 an O			
		Ia 2,381	4,31 (−0,65)	Ia — 50′	2 P, $AuCl_3$, Phenol
		Ia+IIa 2,458	4,45 (−0,51)	IIa — 20′	
		CH_3 an N			Fällungsbeginn OCH_3 193°
		Ib 2,663	4,82 (−0,14)	Ib 1 St. 14′	Fällungsbeginn NCH_3 315°
		Ib+IIb 3,186	5,76 (+0,80)	IIb — 59′	
70	3,813	CH_3 an O			
		Ia 2,580	4,33 (−0,63)	Ia — 36′	2 P, $AuCl_3$, Phenol+ $(CH_3COO)_2O$
		Ia+IIa 2,905	4,88 (−0,08)	IIa — 18′	
		CH_3 an N			Fällungsbeginn OCH_3 154°
		Ib 1,757	2,95 (−2,01)	Ib 1 St. 08′	Fällungsbeginn NCH_3 363°
		IIb Verdorben			

Lauf. Nr.	mg Einwage	mg AgJ-Auswagen	% CH_3. In Klammern: Abweichung v. d. Theorie	Destillationen	Bemerkungen
71	4,104	CH_3 an O			
		Ia+Ia' 2,878	4,49 (—0,47)	Ia — 45' Ia' — 11'	1 P, $AuCl_3$, Phenol+ $(CH_3COO)_2O$
		Ia'+IIa 3,090	4,82 (—0,14)	IIa — 20'	
		CH_3 an N			Fällungsbeginn OCH_3 164°
		Ib 2,548	3,97 (—0,99)	Ib 1 St. 15'	Fällungsbeginn NCH_3 321°
		IIb Verdorben			
74	3,265	CH_3 an O			
		Ia 2,233	4,38 (—0,58)	Ia — 44'	1 P, $AuCl_3$, Phenol+ $(CH_3COO)_2O$
		CH_3 an N			Fällungsbeginn OCH_3 174°
		Ib 2,146	4,21 (—0,75)	Ib 1 St. 26'	Fällungsbeginn NCH_3 330°
		Ib+IIb 3,039	5,96 (+1,00)	IIb 1 St. 24'	

Versuchsreihe VI:

a) Theobromin (Trommsdorff).

Die Bestimmung erfolgte vollkommen analog der Kaffeinbestimmung, also durch je dreimalige Destillation.

Es wurde je eine Bestimmung im 1-Phosphor- und eine im 2-Phosphor-Apparat ausgeführt, zuerst ohne Zusatz, dann mit Essigsäureanhydrid.

b) Die übrigen Methylimidbestimmungen wurden mit Theobromin (Merck) pur. ausgeführt.

Man kann die von beiden Substanzen gewonnenen Resultate als gleichwertig ansehen und in eine Reihe zusammenfassen, da vor allem die ersten Destillationen ziemlich konstante Werte zeigen:

So hatten die vier ersten Destillationen von Theobromin (Tro.) eine maximale Differenz von der Theorie von (—1,35%), eine minimale von (—0,96%), im Mittel (—1,18%). Beim Theobromin Merck sind die entsprechenden Werte (—1,30%) und (—0,87%), im Mittel von drei Bestimmungen (—1,19%). Die vierte Bestimmung fällt als zu hoch aus dem Rahmen (—0,15%).

In dieser Reihe ist die sonst niemals erreichte hohe Konstanz der ersten AgJ-Niederschläge bemerkenswert. Nach der dritten Destillation hört jede Konstanz der Werte auf; man erhält Endresultate, die (beide Theobrominpräparate zusammen betrachtet) den theoretischen Wert

maximal um +5,58%, minimal um +0,58% übertreffen, im Durchschnitt von sieben Bestimmungen um +1,95%.

Diese Werte sind auch in dieser Reihe von der Art des Gefäßes unabhängig, ebenso von den meist geringen Schwärzungen des Einleitungsrohres. So ist zum Beispiel bei einer Bestimmung, bei der geringe dunkle Tropfenränder im Einleitungsrohr auftraten, der Anfangswert (—1,17%) der Theorie, der Endwert (+2,40%). Bei einer anderen Bestimmung zeigte sich bei der zweiten Destillation ein starker schwarzer Beschlag im Einleitungsrohr: Trotzdem wich der Anfangswert um (—0,87%), der Endwert um (+1,12%) von der Theorie ab.

Die Ausscheidung der Silber-Doppelverbindung begann bei Theobromin (Trommsd.) meist über 314°, bei Theobromin (Merck) unter 300° (238 bis 285°).

Auch hier konnte kein Vorteil in der Benützung von Phenol, Essigsäureanhydrid oder von beidem gefunden werden.

Tabelle VI:

Lauf. Nr.	mg Einwage	mg AgJ-Auswagen	% CH_3. In Klammern: Abweichung v. d. Theorie	Destillationen	Bemerkungen
51	5,778	I 13,947	15,45 (—1,23)	I 1 St. 53′	2 P, keine Zusätze
		I+II 15,312	16,96 (+0,28)	II 1 St. —′	
		I+II+III 19,013	21,06 (+5,58)	III 1 St. 34′	Fällungsbeginn 317°
52	3,649	I 8,842	15,51 (—1,17)	I 1 St. 40′	1 P, $(CH_3COO)_2O$
		I+II 9,679	16,97 (+0,29)	II 1 St. 53′	
		I+II+III 10,880	19,08 (+2,40)	III 1 St. 37′	Fällungsbeginn 334°
54	5,291	I 12,999	15,72 (—0,96)	I 2 St. —′	2 P, Essigsäureanhydrid
		I+II 14,038	16,98 (+0,30)	II 1 St. 46′	
		I+II+III 14,272	17,26 (+0,58)	III 1 St. 45′	Fällungsbeginn 314°
78	3,083	I 7,366	15,29 (—1,39)	I 1 St. 44′	2 P, Phenol
		I+II 8,076	16,76 (+0,08)	II 1 St. 19′	
		I+II+III 8,349	17,33 (+0,65)	III 1 St. 17′	Fällungsbeginn 277°
79	3,782	I 9,345	15,81 (—0,87)	I 1 St. 26′	1 P, Phenol+ $(CH_3COO)_2O$
		I+II 10,274	17,38 (+0,70)	II 1 St. 24′	
		I+II+III 10,588	17,80 (+1,12)	III 1 St. 38′	Fällungsbeginn 265°
80	5,005	I 12,929	16,53 (—0,15)	I 1 St. 35′	2 P, Phenol+ $(CH_3COO)_2O$
		I+II 14,361	18,36 (+1,68)	II 1 St. 41′	
		I+II+III 14,734	18,84 (+2,16)	III 1 St. 51′	Fällungsbeginn 285°

Versuchsreihe VII:

Versuche mit Theobromin pur. (Merck).

Hier wurde die gleiche Reihenfolge der Zusätze eingehalten, aber außerdem $AuCl_3$-Lösung zugesetzt. Des weiteren wurde versucht, ob die Resultate gleichmäßiger ausfielen, wenn man die Phosphorsuspension nach jeder Einzeldestillation wechselte. Dies wurde von der dritten Bestimmung der Reihe an bis zu ihrem Schluß durchgeführt. Der einzige Vorteil dieser Maßnahme war der, daß Schwärzungen im Einleitungsrohr niemals eintraten. Die Resultate waren aber leider viel unregelmäßiger als die der goldchloridfreien Reihe; der theoretische Wert kam zumeist zwischen die erste und zweite Destillation zu liegen.

Die ersten beiden Bestimmungen, 81 und 77 (Goldchlorid, sonst kein Zusatz), liefern unter der ganzen Anzahl der übrigen Analysen den einzigen klaren Beweis dafür, daß die Werte durch schwarze Niederschläge stark erhöht werden können. Bei Bestimmung 81 trat zu Beginn der zweiten Destillation ein starker schwarzer Beschlag im Rohr auf:

Die CH_3-Werte betragen demnach nach Destillation:

I 16,16% CH_3 (—0,52%).
II 18,80% CH_3 (+2,12%).
III 19,19% CH_3 (+2,51%).

Noch krasser tritt diese Zunahme bei 77 hervor; hier schied sich ebenfalls zu Beginn der ersten und vor allem der zweiten Destillation ein schwarzer Beschlag im Einleitungsrohr ab.

Die entsprechenden Werte sind:

I. 16·83% CH_3 (+ 0·15%).
II. 22·40% CH_3 (+ 5·72%).
III. 23·25% CH_3 (+ 6·57%).

Diese abnormen Werte veranlaßten mich zur Wiederholung der Bestimmung mit Wechsel der Phosphorsuspension nach jeder Destillation.

Wenn man die Werte dieser Reihe nur von diesem Punkte an betrachtet, so ergibt sich folgendes Bild: Nach der ersten Destillation beträgt der tiefste CH_3-Wert 14,72% (=—1,96% der Theorie), der höchste 17,85% (=+1,17% der Theorie). Die mittlere Abweichung von der Theorie bei sieben Bestimmungen ist —0,59%.

Nach der dritten Destillation erhalten wir als tiefsten Wert 16,20% CH_3 (=—0,48% der Theorie), als höchsten 20,11% (=+3,43%). Die mittlere Abweichung von der Theorie ist hier +1,83%.

Die Ausscheidung der Halogenfällung liegt fast immer unterhalb 290° (Max. 328°, Min. 259°).

Auch in dieser Reihe bewirkt das Goldchlorid nur eine stärkere Anreicherung der Fällung in der ersten Destillation, macht aber weitere Destillationen nicht entbehrlich. Mit zwei Destillationen könnte man bei dieser Substanz das Auslangen finden. Wie die Erfahrung zeigt, erhält man dennoch recht bedeutenden Gewichtszuwachs nach einer dritten Destillation. Dadurch wird ein Uebergang zur letzten Versuchsreihe hergestellt, die drei Leerversuche umfaßt, welche die interessante Tatsache zeigen, daß selbst in diesem Falle wägbare Jodsilbermengen erhalten werden.

Tabelle VII.

Lauf. Nr.	mg Einwage	mg AgJ-Auswagen	% CH_3. In Klammern: Abweichung v. d. Theorie	Destillationen	Bemerkungen
81	2,714	I 6,856	16,16 (−0,52)	I 1 St. 41′	1 P, $AuCl_3$
		I+II 7,976	18,80 (+2,12)	II 1 St. 31′	
		I+II+III 8,328	19,19 (+2,51)	III 1 St. 33′	Fällungsbeginn 298°
82*	2,768	I 6,918	15,99 (−0,69)	I 1 St. 17′	2 P, $AuCl_3$
		I+II 8,153	18,84 (+2,18)	II 1 St. 48′	
		I+II+III 8,567	19,80 (+3,12)	III 1 St. 34′	Fällungsbeginn 272°
83	3,176	I 7,307	14,72 (−1,96)	I 1 Sf. 40′	1 P, $AuCl_3$, $(CH_3COO)_2O$
		I+II 7,851	15,82 (−0,86)	II 1 St. 23′	
		I+II+III 8,041	16,20 (−0,48)	III 1 St. —′	Fällungsbeginn 328°
84	3,293	I 8,412	16,35 (−0,33)	I 1 St. 22′	2 P, $AuCl_3$, $(CH_3COO)_2O$
		I+II 9,027	17,54 (+0,86)	II 1 St. 16′	
		I+II+III 9,407	18,28 (+1,60)	III 1 St. 9′	Fällungsbeginn 270°
85	2,659	I 6,429	15,47 (−1,21)	I 1 St. 35′	1 P, $AuCl_3$, Phenol
		I+II 6,962	16,75 (+0,07)	II 1 St. 18′	
		I+II+III 7,501	18,05 (+1,37)	III 1 St. 10′	Fällungsbeginn 292°
86	3.007	I 7,971	16,96 (+0,28)	I 1 St. 38′	2 P, $AuCl_3$, Phenol
		I+II 8,742	18,60 (+1,92)	II 1 St. 20′	
		I+II+III 9,174	19,52 (+2,84)	III 1 St. 21′	Fällungsbeginn 271°
87	3,541	I 8,458	15,28 (−1,40)	I 1 St. 40′	1 P, $AuCl_3$, Phenol, $(CH_3COO)_2O$
		I+II 9,524	17,21 (+0,53)	II 1 St. 13′	
		I+II+III 9,738	17,60 (+0,92)	III 1 St. 28′	Fällungsbeginn 259°

* Von Versuch 82 an wurde die Phosphorsuspension nach jeder Destillation gewechselt.

Versuchsreihe VIII:

Leerversuche.

Es wurde je eine ungewogene Menge von Saccharose (Kahlbaum) in Stanniolhütchen in den Zersetzungskolben eingeführt, der mit der üblichen Menge NH_4J und 1,6 ccm HJ beschickt war. Die Leerbestimmung wurde im 2-Phosphor-Apparat unter den gleichen Bedingungen ausgeführt wie die oben beschriebene eigentliche Bestimmung; es wurde nur einmal destilliert.

Bereits bei $\pm$ 160° begann sich im Einleitungsrohr ein weißlicher Beschlag zu zeigen, der sich immer mehr verstärkte; später traten auch kleine Flöckchen in der Fällungsepouvette auf.

Ganz ebenso wurde mit Zusatz von Goldchlorid verfahren. Bei zirka 180° trat der erste Beschlag im Einleitungsrohr auf.

Eine dritte Bestimmung wurde mit Goldchloridzusatz ausgeführt. Diesmal wurde ein leeres Stanniolhütchen in den 2-Phosphor-Apparat eingefüllt.

Diesmal zeigten sich bei 197° schwarze Tropfenränder im Einleitungsrohr; bei 230° begann die Bildung des weißen Beschlages.

Die AgJ-Mengen waren jedesmal wägbar; legt man die ungefähren Grenzen der gewöhnlichen Einwagen, das sind 3 bis 8 mg, zugrunde, so erhält man im Mittel Mehrbeträge von 1,03 bis 0,39% für jede einzelne Destillation. Da die meisten Einwagen zwischen 2,5 und 4 mg liegen, ist von der zweiten bis zur dritten Destillation ein Mindestzuwachs von 0,5 bis 0,8% zu erwarten, und das ist tatsächlich der Fall.

Beim Kaffein wird dieser Grenzwert eher überschritten, beim Theobromin und Kokain gilt er ziemlich allgemein, wird aber bei diesen beiden Körpern eher ein wenig unterschritten.

Tabelle VIII:

Lauf. Nr.	Leerversuche	Destillationen	Bemerkungen
72	Zirka 6 bis 8 mg Saccharose Kahlbaum	1 St. 30′	2 P, ohne Zusatz
	AgJ—0,682 mg: Ber. für 3,000 mg Einw. 1,46% CH_3		Bereits bei $\pm$160° Beschlag im Rohr
	AgJ—0,682 mg: Ber. für 8,000 mg Einw. 0,55% CH_3		

Lauf. Nr.	Leerversuche	Destillationen	Bemerkungen
73	Zirka 6 bis 8 mg Saccharose Kahlbaum AgJ—0,407 mg { Ber. für 3,000 mg Einw. 0,87% CH_3 / Ber. für 8,000 mg Einw. 0,32% CH_3	1 St. 24′	2 P, $AuCl_3$ Im OCH_3-Bereich Beschlag im Rohr (ca. 180°)
76	Leeres Stanniolhütchen. Apparatur ausgedämpft AgJ—0,378 mg { Ber. für 3,000 mg Einw. 0,81% CH_3 / Ber. für 8,000 mg Einw. 0,30% CH_3	1 St. 37′	2 P, Goldchlorid Bei 197° schwarze Tropfenränder beobachtet Bei 230° geringe Niederschläge im Rohr

Zusammenfassung.

Aus allen diesen Bestimmungen, von denen wegen Raummangels hier nur ein Teil wiedergegeben wurde, ergibt sich, daß konsequente Fehler, mit Ausnahme der Leerbestimmungsfehler, innerhalb der einzelnen Analysenreihen nicht festgestellt werden konnten.

Es scheinen also die Ursachen der Fehlwerte hauptsächlich darin zu liegen, daß nicht jede in einer organischen Verbindung befindliche Methylimidgruppe gleich leicht abgespalten wird, beziehungsweise scheint von Substanzen mit mehreren NCH_3-Gruppen nicht alles Methylimid gewinnbar zu sein.

Ein zweiter Fehler liegt darin, daß die Phosphorsuspension selbst bei Anwendung von zwei Waschgefäßen nicht imstande ist, Jodwasserstoff quantitativ zurückzuhalten, selbst wenn nach jeder Destillation neue Waschflüssigkeit vorgelegt wird. Ein Beweis dafür sind die Leerversuche und die Theobrominbestimmungen.

Es können somit Methylimidwerte nur annähernd bestimmt werden.

Noch größere Schwierigkeiten bietet natürlich die gleichzeitige Bestimmung von OCH_3 neben NCH_3, da aus den angeführten Gründen bei der Destillation kaum der Punkt mit Sicherheit erreicht werden kann, bei welchem nur das der OCH_3-Gruppe entsprechende Halogensilber abgeschieden wird, aber nicht obendrein ein Niederschlag, der auch vom Jodwasserstoff herrührt, beziehungsweise von einer teilweise abgespaltenen Methylimidgruppe. Dieser Fall ist vor allem bei der zweiten Destillation zu gewärtigen.

Ueber den Nachweis aktiver H-Atome mit Zinkäthyl.

Von Felix Haurowitz.

(Aus dem mediz.-chem. Institut der deutschen Universität in Prag.)

Zur quantitativen Bestimmung aktiver H-Atome in organischen Verbindungen dient allgemein die Methode von Zerewitinoff[1]. Sie beruht auf der gasanalytischen Bestimmung des CH_4, das aus $MgJCH_3$ durch aktive H-Atome in Freiheit gesetzt wird. Zum schnellen qualitativen Nachweis aktiver H-Atome ist das von Zerewitinoff empfohlene Reagens eine Lösung von $MgJCH_3$ in Amyläther, wenig geeignet, da seine Bereitung etwa 24 Stunden dauert und das Reagens wegen beschränkter Haltbarkeit oft frisch hergestellt werden muß.

Zur Auflösung der zu untersuchenden Substanzen können ferner bloß Lösungsmittel verwendet werden, die kein aktives H-Atom besitzen. Unter diesen hat Pyridin das größte Lösungsvermögen. Bei Anwendung von Pyridin treten jedoch zwei weitere Nachteile der Zerewitinoffschen Methode zutage: erstens das störende Ausfallen eines weißen Niederschlages beim Zusammenbringen von Reagens und Pyridin, und zweitens die starke Gasentwicklung im Blindversuch. Die letztere zwingt dazu, das Pyridin puriss. des Handels einer ein bis zwei Wochen dauernden Trocknung mit BaO zu unterziehen.

Wir haben versucht, an Stelle des Mg-Reagens Zinkäthyl zu verwenden. Reines Zinkäthyl ist wegen seiner Entzündbarkeit an Luft zu solchen Versuchen wenig brauchbar. Mischt man es jedoch mit zwei oder mehr Mol Pyridin, so erhält man ein Gemisch, das an der Luft nur schwach raucht. Es weist vor dem Grignardschen Mg-Reagens mehrere Vorzüge auf. Erstens: es ist aus käuflichem Zinkäthyl und Pyridin in wenigen Minuten darstellbar; zweitens: es gibt mit Pyridin keinen Niederschlag, so daß die Reaktion in homogenem Medium abläuft, und drittens: es gibt mit käuflichem Pyridin puriss. nur ganz geringe Gasentwicklung, so daß die lange Vorbehandlung des Pyridins entfällt.

Wir haben erwartet, daß Zinkäthyl mit aktiven H-Atomen quantitativ unter Bildung von Aethan reagieren wird (I).

$$\text{I. } Zn(C_2H_5)_2 + 2RH = 2C_2H_6 + ZnR_2$$

---

[1] Zerewitinoff, Ber. d. deutsch. Chem. Ges. 40, 2023 (1907).

Tatsächlich beobachteten wir mit Aethylalkohol annähernd Entwicklung der berechneten Gasmenge. Dagegen erhielten wir bei allen anderen untersuchten Stoffen um 20 bis 60% geringere Mengen von Aethan. Die Reaktion mit diesen Stoffen verlief also nicht nach I; denn infolge Gasbildung müßte das Gleichgewicht stets vollkommen nach der rechten Seite der Gleichung verschoben sein; ein partieller Ablauf wäre daher undenkbar.

Der Reaktionsverlauf wurde am Beispiel der Benzoesäure näher untersucht. Er erwies sich als abhängig von den Mengenverhältnissen der beiden Komponenten. Wirkte überschüssige Benzoesäure auf Zinkäthyl in Pyridin ein, so erfolgte quantitative Zersetzung des Zinkäthyls zu Aethan. Dagegen vermochte überschüssiges Zinkaethyl nur einen Teil der Benzoesäure anzugreifen und unter Aethanbildung in Zn-Benzoat zu verwandeln. Der unangegriffene Teil der Benzoesäure ließ sich nach Ablauf der Reaktion durch Ansäuern mit H_2SO_4 quantitativ wiedergewinnen, war also weder reduziert noch auch in anderer Weise chemisch tiefgreifend verändert worden.

Wir nehmen an, daß Zinkäthyl und Benzoesäure in Pyridin zum Teil oder ausschließlich nach II reagieren und daß in der entstehenden komplexen Verbindung die eingelagerte Benzoesäure gegen die Einwirkung überschüssigen Zinkäthyls geschützt ist.

$$\text{II. } Zn(C_2H_5)_2 + nC_6H_5COOH = (C_6H_5 . COO)_2 Zn . (C_6H_5 . COOH)_{n-2} + 2\,C_2H_6$$

Da Zn in seinen komplexen Verbindungen zumeist koordinativ vierwertig ist, dürfte $n = 4$ sein. Allgemein verliefe dann die Reaktion nach III.

$$\text{III. } Zn(C_2H_5)_2 + 4\,RH = ZnR_2 . (RH)_2 + 2\,C_2H_6$$

Es ist möglich, daß aus dem Reaktionsprodukt durch das anwesende Pyridin eine Verbindung gebildet wird, die analog dem von Weinland[2] beschriebenen $[ZnCl_4]H_2 . 2C_5H_5N$ zusammengesetzt ist, also $[ZnR_4]H_2 . 2\,C_5H_5N$ oder $[ZnR_4H_2] . 2\,C_5H_5N$.

Unser Verfahren ist auf Grund der beschriebenen Ergebnisse zur quantitativen Bestimmung aktiver H-Atome nur ausnahmsweise brauch-

[2] Weinland, Chemie der komplexen Verbindungen, S. 209.

bar (zum Beispiel zur Bestimmung des Aethylalkohols). Es kann jedoch allgemein zum qualitativen gasanalytischen Nachweis aktiver H-Atome auf makro- und mikrochemischem Wege verwendet werden.

Experimenteller Teil. (Unter Mitwirkung von Konrad Zirm.)

1. Bereitung des Reagens.

Das Zinkäthyl bereiteten wir uns anfangs selbst nach Frankland. Später wurde es in Ampullen zu 10 g von Merck bezogen. Die angefeilte Ampulle wird zur Bereitung des Reagens in 20 ccm Pyridin puriss. (Merck) geworfen, die sich in einem weithalsigen Meßzylinder von 100 ccm Inhalt befinden. Die Ampulle wird durch Schütteln zertrümmert und unter Kühlung mit fließendem Wasser allmählich vollkommene Mischung bewerkstelligt.

Das so bereitete Reagens raucht an Luft nur sehr schwach. Verwendet man jedoch weniger als 2 Mol Pyridin, so raucht es lebhaft. Man darf daraus und aus der starken Erwärmung beim Mischen wohl auf Bildung einer lockeren Verbindung $Zn(C_2H_5)_2 . 2\ C_5H_5N$ schließen. Die Mischung war stets gelb gefärbt.

2. Einwirkung des Reagens auf aktive H-Atome.

Die Makroversuche wurden in der von Zerewitinoff[3], die Mikroversuche in der von Flaschenträger[4] beschriebenen Apparatur vorgenommen. In den größeren Schenkel des Gasentwicklungsgefäßes kam die in 2 ccm Pyridin puriss. (Merck) gelöste Substanz, in den kleineren Schenkel 1 ccm des Zn-Reagens. Nach 10 Minuten hat sich der Hg-Meniskus konstant eingestellt. Nun wird gekippt, Reagens und Substanz gut durchgemischt, in ein Bad von Zimmertemperatur gebracht und nach 10 Minuten abgelesen. Für grobe qualitative Versuche genügt es auch, die Gasentwicklung beim Zusammenbringen der Komponenten zu beobachten. Die Gasentwicklung im Blindversuch (das ist mit 2 ccm Pyridin) war sehr gering, nämlich 0 bis 0,13 ccm. Sie ist in Tabelle 1 bereits abgezogen. Beim Oxyhämin wurde die Bestimmung bei 85° vorgenommen, da es sich in Pyridin nur langsam löst. Der Blindwert war dann etwas höher.

---

[3] Zerewitinoff, Ber. d. deutsch. Chem. Ges. 40, 2023 (1907).

[4] Flaschenträger, Z. f. physiol. Chem. 146, 218 (1925).

Tabelle I

Einwirkung von Zn-Aethyl auf aktive H-Atome.

Vers. Nr.	mg	Substanz	t°	Druck mm	ccm Aethan	% der Theorie	Anmerkung
1	3,8	Resorzin	2,5	745	1,07	65	
2	2,7	„	2,5	745	0,81	70	
3	8,7	„	2,5	750	2,33	64	
4	93,6	„	28,0	748	22,3	51	Bildung eines Niederschlages
5	14,2	β-Naphthol	3,0	748	1,59	68	
6	11,0	„	9,0	746	1,25	67	
7	141,2	α-Naphthol	28,0	748	17,0	67	
8	5,2	Benzoesäure	3,0	748	0,65	64	
9	20,2	„	15,0	731	2,80	67	4 n-Zinkäthyl
10	57,1	„	15,0	739	7,76	66	2,6 n-Zinkäthyl
					8,08	69	desgl. bei 85°
11	45,5	„	15,0	739	7,40	66	1,3 n-Zinkäthyl
12	70,8	„	15,0	731	9,58	65	desgl. bei 85°
13	200,0	„	17,5	747	32,8	80	
14	221,5	„	28,0	748	38,2	79	
15	4,0	Aethylalkohol	9,0	746	2,04	98	
16	40,0	„	17,0	744	20,4	94	
17	2,9	2,4-Dimethyl-, 3,5-Dicarbaethoxylpyrrol	9,0	754	1,90	49	
18	13,8	Cl-Hämin	5,0	740	0,85	56	
19	13,0	„	3,5	751	0,93	66	
20	8,2	„	9,5	747	0,64	65	
21	6,5	„	9,0	744	0,43	60	
					0,51	70	bei 85°
22	7,9	Oxyhämin	9,0	744	0,70	79	„ „
23	19,0	„	10,0	738	1,44	65	„ „

In Tabelle I schwanken die Temperaturen sehr stark, da die Messungen in einem ungeheizten Raum teils im Winter, teils im Sommer vorgenommen wurden. — Versuch 9 bis 12 zeigt, daß das Resultat von der Temperatur und der Konzentration des Reagens unabhängig ist. Die letztere wurde derart bestimmt, daß 1 ccm des Reagens im Zerewitinoffschen Apparat mit einem großen Ueberschuß, nämlich 2 ccm Aethylalkohol, zersetzt und das entwickelte Aethan gemessen wurde. Zum Beispiel:

10. Januar: 1 ccm Zinkreagens . . . . 98,8 ccm Aethan (16°, 746 mm), das ist 0,123 g Aethan = 4,1-normal oder 2,05-molar (bezogen auf Zinkäthyl).

18. Januar: 1 ccm Zinkreagens . . . . 57,0 ccm Aethan (17°, 741 mm), das ist 69,6 mg Aethan = 2,3-normal oder 1,15-molar.

Aus dem Beispiel ist ersichtlich, daß sich das Zinkreagens im Laufe einer Woche etwa ebenso stark zersetzt wie Grignards Reagens. Man erreicht jedoch wesentlich höhere Konzentrationen.

Der Partiardruck des Pyridins ist in den Versuchen der Tabelle berücksichtigt. Die dadurch verursachte Korrektur ist jedoch so gering, daß sie bei qualitativen Versuchen vernachlässigt werden kann.

An Stelle des Pyridins verwandten wir in zahlreichen Versuchen Dimethylanilin als Lösungsmittel. Die Resultate waren im wesentlichen dieselben. Dimethylanilin wurde aus dem käuflichen Präparat durch dreimaliges Umkristallisieren beim Schmelzpunkt gereinigt dargestellt.

3. Ueber die Reaktion zwischen Zinkäthyl und Benzoesäure.

a) Einwirkung überschüssiger Benzoesäure. 1 ccm des Zinkreagens, das mit Alkohol 98,8 ccm Aethan entwickelt hatte (s. o.), lieferte bei Eintragen eines Ueberschusses von Benzoesäure (= 2 g) in Pyridin (2 ccm) 97,2 ccm Aethan (17°, 746 mm), das ist 0,120 g Aethan. Weiterer Zusatz von H_2O bewirkte keine Gasentwicklung. Das Reaktionsgemisch wurde durch Eindampfen am Wasserbade von Pyridin befreit, durch wiederholtes Eindampfen mit H_2O von überschüssiger Benzoesäure. Es verblieben 0,714 g Rückstand, die durch H_2SO_4 zerlegt wurden. Durch Ausschütteln mit Aether und Abdunsten bei Zimmertemperatur wurden die typischen Kristalle reiner Benzoesäure erhalten; Schmelzpunkt 121°. Andere ätherlösliche Produkte waren nicht vorhanden. Die saure wässrige Lösung wurde mit Ammonazetat und H_2S behandelt, der Niederschlag im Rosetiegel mit Schwefel im H_2-Strom geglüht. Gef. 0,223 g ZnS, ber. 0,225 g f. Zinkbenzoat. Für die entwickelte Aethanmenge lassen sich 0,719 g Zinkbenzoat berechnen, gef. 0,714 g. Danach ist das vorhandene Zinkäthyl quantitativ in Zinkbenzoat und Aethan überführt worden.

b) Einwirkung von überschüssigem Zinkreagens. In 30 ccm des frisch bereiteten Reagens wurden allmählich 2 g Benzoesäure unter Kühlung eingetragen, dann zur Abscheidung des Zinkbenzoates mit Petroläther versetzt, bis keine weitere Abscheidung erfolgte. Es wurden 400 ccm Petroläther gebraucht.

Die mit Petroläther gewaschene Fällung wurde wie unter a) zerlegt und 1,0078 g Benzoesäure, 0,770 g Zn, ferner 0,595 g Pyridin gefun-

den. Zur Bestimmung des letzteren wurde ein Teil der schwefelsauren Lösung mit NaOH alkalisch gemacht und mit Petroläther extrahiert, im Extrakt das Pyridin gegen Kongo mit n/10—H_2SO_4 titriert. Der Niederschlag enthielt ferner noch unzersetztes Zinkäthyl, da er mit Alkohol reichlich Aethan entwickelte. Er war jedoch frei von Reduktionsprodukten der Benzoesäure.

Auch die petrolätherische Lösung enthielt keinerlei Umwandlungsprodukte der Benzoesäure. Nach Zersetzen mit Schwefelsäure und Ausäthern hinterließ der Aether reine Benzoesäure; durch Ausäthern der alkalisch gemachten Lösung wurde Pyridin erhalten und durch Ueberführen in das Jodmethylat als frei von Beimengungen erkannt. Aetherextrakte der neutralisierten Lösung gaben keinen Rückstand, so daß die Abwesenheit anderer organischer Substanzen, die aus Benzoesäure entstanden sein könnten, sichergestellt ist.

Es ist bemerkenswert, daß nur ein Teil, etwa 50%, der Benzoesäure als Zinksalz durch den Petroläther gefällt worden war. Der Rest war, vermutlich komplex gebunden, im Petroläther gelöst.

Ueber die mikrochemische Bestimmung von Blausäure mittels der Brunswik-Reaktion.

Von W. P. Malitzky und M. T. Koslowsky.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Odessaer Instituts für wissenschaftlich-gerichtliche Expertise.)

Im Jahre 1921 ist von Brunswik eine neue mikrochemische Reaktion auf Blausäure angegeben worden, die in eine Reihe von Handbüchern der chemischen und mikrochemischen Analyse aufgenommen wurde[1] und sich einer weitgehenden praktischen Anwendung erfreut, insbesondere bei gerichtlich-chemischen Untersuchungen der Eingeweide auf Gifte und bei Leichensektionen als vorläufige Probe[2], die an Stelle der Schönbein-Pagenstecher-Probe getreten ist. Zu den wichtigsten Vorzügen dieser Reaktion gehören ihre Spezifität, einfache und wenig zeitraubende Ausführung und eine sehr große Empfindlichkeit. Das Wesentliche der Reaktion besteht in folgendem: Ein Tropfen der zu untersuchenden Lösung oder die unmittelbar zu untersuchende Substanz wird in ein kleines Gefäß, in eine sogenannte „Gaskammer" — Inhalt gewöhnlich etwa 1 ccm — getan und mit ein bis zwei Tropfen verdünnter Schwefelsäure oder gesättigter Oxalsäure angesäuert. Die Gaskammer wird oben mit einem Objektträger geschlossen, auf dessen untere Fläche ein Tropfen mit Methylenblau gefärbter einprozentiger Silbernitratlösung aufgetragen ist. Die bei der Ansäuerung der zu untersuchenden Lösung sich entwickelnden Blausäuredämpfe steigen infolge ihres geringen spezifischen Gewichtes (0,947 im Vergleich zur Luft) aufwärts und rufen mit der Silbernitratlösung reagierend durch die Ausfällung von Silbercyanid Tropfentrübung hervor. Unter dem Mikroskop (Vergr. 300 bis 800) erweist sich diese Trübung als aus charakteristischen blauen, nadelförmigen, in polarisiertem Lichte gerade Auslöschung zeigenden Kristallen bestehend. Mikrophotogramme dieser Kristalle sind in den Abb. 2, 3, 4, 6, Tafel III, dargestellt.

Die Empfindlichkeit der Brunswik-Reaktion ist sehr groß. Mit derselben lassen sich 0,06 γ^3 (0,00000006 g) Blausäure nachweisen, wobei

---

[1] F. Emich, Lehrbuch der Mikrochemie, 1926, 221. L. Rosenthaler, Der Nachweis organischer Verbindungen, 1923, 494.

[2] Neureiter, Gerichtl.-medizin. Expertise, Moskau 1925, I, 17; Rutschkin, 1926, IV, 68.

[3] Neureiter, ibid., 18.

diese von Brunswik selbst angegebene Zahl nach unseren Untersuchungen durchaus nicht übertrieben ist. Als ein anschauliches Beispiel der Empfindlichkeit dieser Reaktion kann auf den Umstand verwiesen werden, daß sie das Nachweisen von Blausäure in kleinen, mit Tabakrauch gefüllten Kolben in kürzester Zeit ermöglicht.

Zur richtigen Beurteilung der sich ergebenden Resultate ist jedoch, trotz aller Einfachheit in der Ausführung dieser Reaktion, die gründlichste Vertrautheit mit derselben und eine genügende Fertigkeit im Manipulieren erforderlich. Widrigenfalls ist es möglich, daß im zu untersuchenden Stoff vorhandene geringe Blausäuremengen unentdeckt bleiben, während in Objekten, die keine Blausäure enthalten, dieselbe nachgewiesen wird; so will ein Chemiker das Vorhandensein von Blausäure in Formalinlösung festgestellt haben[4].

Bei Gegenwart von großen Blausäuremengen in der zu untersuchenden Menge geschieht die Bildung der Trübung augenblicklich, die Kristalle fallen infolgedessen sehr klein aus und deren Erkennung wird etwas erschwert. Ferner kommt es — sowohl bei großen als auch bei unbedeutenden Blausäuremengen — oft vor, daß Silbercyanid nicht in Gestalt von spezifischen Nadeln kristallisiert, nach deren Vorhandensein man auf die Gegenwart der Blausäure schließt, sondern in Form von durchaus nicht charakteristischen feinen zusammengehäuften Körnchen. In solchen Fällen muß das Silbercyanid aus heißer verdünnter (1 : 1) Salpetersäure umkristallisiert werden, eine Operation, die die sorgfältigste Einhaltung einer Reihe von Bedingungen und eine große Fertigkeit erheischt. Ist aber wenig Blausäure vorhanden und die Menge der ausgefallenen Kristalle unbedeutend, so erweist sich diese Operation, selbst bei der sorgfältigsten und exaktesten Ausführung der Umkristallisation, als erfolglos.

Wir haben gefunden, daß bei Anwendung von angesäuerter Salpetersäure an Stelle der neutralen Silbernitratlösung sich stets Silbercyanid in Gestalt von herrlich ausgebildeten Nadeln ausscheidet, was offenbar durch die hemmende Wirkung der Salpetersäure auf den Prozeß der Kristallbildung bedingt wird (Mikrophotogramme 1 bis 2, Tafel III[5]). In

---

[4] Rutschkin, ibid., 70.

[5] Die Herstellung der geeignetsten Silbernitratlösung zu diesem Zwecke geschieht wie folgt: 1 ccm 10%iger $AgNO_3$-Lösung wird mit 4 ccm wässeriger Methylenblaulösung verdünnt, sodann werden 5 ccm HNO_3 von 1,4 spezifischem Gewicht zugesetzt. Das Gemisch wird filtriert. Die Lösung ist innerhalb eines Monats zum Gebrauch geeignet.

diesem Falle bedarf es folglich keiner Umkristallisierung, was die Arbeit beträchtlich vereinfacht. Die Empfindlichkeit der Reaktion erleidet bei Verwendung von angesäuerter Silbernitratlösung keine merkliche Herabsetzung; selbstverständlich sind für diese Reaktion tunlichst kleine Silbernitrattropfen zu nehmen (etwa von 0,1 cmm Volumen).

Das Ansäuern der Silbernitratlösung mit Salpetersäure hat noch den Vorzug, daß es das Ausfallen sonstiger Silbersalze verhindert; das kann aber bei Vorhandensein in dem zu analysierenden Material anderer Stoffe außer den Cyanverbindungen stattfinden. Ferner wird bisweilen bei der Verwendung neutraler Silbernitratlösungen die Bildung von Kristallen oxalsauren Silbers beobachtet, hervorgerufen durch auf das Silbernitrat geratende feinste mit bloßen Augen nicht wahrnehmbare Tröpfchen, die aus der zu untersuchenden Lösung von bei deren Ansäuern entweichenden Gasen, zum Beispiel von der Kohlensäure, mitgerissen werden. Es sei hier unter anderem darauf hingewiesen, daß Kohlensäure für sich, trotz der Meinung einiger Autoren[6], aus neutraler Silbernitratlösung gar keinen Niederschlag ausscheidet. In Salpetersäure unlösliche Silberhaloidsalze, die sich bilden können, lassen sich als zum regulären System gehörende leicht von Silbercyanid bei Untersuchung in polarisiertem Licht unterscheiden (siehe Mikrophotogramme 3 bis 4, Tafel III).

Doch erschwert die Gegenwart bedeutender Mengen Silber-Haloidsalze in beträchtlicher Weise das Auffinden der Silbercyanidkristalle, und diese können dadurch bisweilen übersehen werden. Eine nahezu vollständige Verhütung der Ausscheidung von Halogenwasserstoffsäuren wird bei dem Ansäuern des zu untersuchenden Materials mit Oxal- und nicht mit Schwefelsäure erzielt. Enthält das Untersuchungsmaterial Komplexverbindungen von Eisencyanid, so ist nach Chamot[7] zu diesem keine Oxal- oder Schwefelsäure, sondern Natriumbicarbonat hinzuzufügen. Bei Vorhandensein von Rhodanverbindungen kann Ansäuern sogar mit Oxalsäure die Bildung von Kristallen bewirken, die die Brunswik-Reaktion maskieren. Wir glauben, daß diese unerwünschten Erscheinungen durch Natriumcarbonatverwendung in Gegenwart von Rhodanverbindungen vermeidbar sind; Untersuchungen in dieser Richtung werden fortgesetzt.

---

[6] Neureiter, ibid., 18.

[7] Mikrochemie 1926, 66.

Von besonderem Interesse war für uns die Anwendung der Brunswik-Reaktion zum Nachweis der Blausäure bei gerichtlich-chemischen Untersuchungen von Eingeweiden auf Gifte, das heißt unter Bedingungen, wo das Vorhandensein von erheblichen Schwefelwasserstoffmengen möglich ist. Es hat sich nun folgendes erwiesen: Sind in dem auf Blausäure zu untersuchenden Material Sulfidverbindungen vorhanden, so bildet sich ungeachtet des Ansäuerns des Silbernitrates mit Salpetersäure — stets an der Oberfläche des Tropfens ein brauner, etwas glänzender Silbersulfidanflug, der von einigen Autoren[8] irrtümlicherweise für Metall erklärt wird; unter dem Mikroskop stellt sich dieser Anflug in Gestalt von braunen amorphen Massen dar. Ist Blausäure in verhältnismäßig bedeutenden Mengen vorhanden, so läßt sich auch bei Gegenwart von Sulfidverbindungen der Augenblick wahrnehmen, wo sich eine hinreichende Menge von Kristallen des (in erster Reihe ausfallenden) Silbercyanids ausgeschieden hat, das noch nicht durch Silbersulfid maskiert ist; des weiteren wird aber die Blausäure aus diesen Kristallen durch Schwefelwasserstoff verdrängt. Wenn jedoch die Menge der Cyanverbindungen im Verhältnis zu den Sulfidverbindungen in dem Untersuchungsmaterial nicht groß ist, so lassen sich die Silbercyanidkristalle gar nicht nachweisen.

An der Hand einiger Daten in Chelles[9] Arbeiten haben wir eine Methode der Bestimmung von Blausäure in Gegenwart von Sulfidverbindungen aufgestellt, die in folgendem besteht: Ein Tropfen der auf Blausäure zu untersuchenden Lösung oder der unmittelbar zu untersuchende Stoff, zum Beispiel 1 bis 2 ccm in der Verwesung begriffener Eingeweide, werden in die Gaskammer getan, mit 5 bis 10 Tropfen gesättigter Oxalsäurelösung angesäuert; wonach in die Kammer sofort Kaliumpermanganatlösung hinzugegeben wird; als Verschluß kommt auf die Kammer, wie gewöhnlich, ein Objektträger mit an der unteren Oberfläche hängenden Tropfen angesäuerter, mit Methylenblau gefärbter Silbernitratlösung. Nach einigen Minuten tritt, wenn Blausäure vorhanden ist, eine mit bloßem Auge wahrnehmbare Trübung auf, und unter dem Mikroskop werden charakteristische nadelförmige Silbercyanidkristalle beobachtet (siehe Mikrophotogramme 5 und 6, Tafel III).

Die Bildung von braunen amorphen Silbersulfidmassen findet unter besagten Bedingungen nicht statt und fehlt in dem zu untersuchenden

---

[8] Neureiter und Rutschkin, loc. cit.

[9] Ztschr. f. analyt. Chemie, 67, 319—320; 70, 95; J. Ogier — E. Kohn-Abrest. Traité de chimie toxicologique. 1924, I, 349—358.

Material Blausäure, so bleibt der Tropfen in der Regel ganz durchsichtig. Somit ist die Entwicklung von Schwefelwasserstoff bei Anwendung der von uns vorgeschlagenen Methode durchaus ausgeschlossen.

Sind basische Lösungen zu analysieren, so muß die besagte Reihenfolge beim Zusetzen der Reagenlien eingehalten werden, da Blausäure in basischen Lösungen von Kaliumpermanganat oxydiert wird[10], desgleichen ist auch die Verwendung von Wasserstoffsuperoxyd für die Oxydierung von Sulfidverbindungen unzulässig[11]. Die Zugabe von Permanganat und das Verschließen der Gaskammer mit einem Objektträger sind wegen der Flüchtigkeit der Blausäure sofort nach der Ansäuerung des Untersuchungsmaterials mit Oxalsäure vorzunehmen. Bei der Anwendung dieser Methode ist aus Rücksicht auf die entweichenden Kohlensäurebläschen eine Gaskammer von etwas größerem Inhalte wünschenswert. Es sei hier darauf hingewiesen, daß Rhodanwasserstoffsäure unter den besagten Bedingungen zu Blausäure oxydiert wird und daß die Behandlung des zu untersuchenden Objekts mit Kaliumpermanganat zwecks Oxydierung der Sulfidverbindungen deshalb lediglich dann zur Anwendung kommen darf, wenn Rhodanide fehlen.

Ist aber in dem zu untersuchenden Material keine Blausäure vorhanden, so kann man sich der beschriebenen Methode mit Erfolg zur Nachweisung der Rhodanwasserstoffsäure bedienen. Letztere geht, der Wirkung von Kaliumpermanganat oder -bichromat in saurer Lösung ausgesetzt, besagtermaßen unter gleichzeitiger Bildung von Schwefelsäure in Blausäure über. Diese Reaktion verläuft glatt, und die Bestimmung der Rhodanwasserstoffsäure mit der vorgeschlagenen Methode zeichnet sich durch Einfachheit und große Empfindlichkeit aus. Als Beispiel kann der Umstand angeführt werden, daß ein Tropfen menschlicher Speichel bei Anwendung dieser Reaktion bereits nach einigen Minuten ein scharf ausgesprochenes positives Ergebnis liefert. Desgleichen ergeben sich positive Resultate auch an geringen Mengen von vertrocknetem menschlichen Speichel und die besagte Reaktion kann neben denen auf das Vorhandensein von Ptyalin zur Nachweisung von Speichelspuren bei gerichtlich-chemischer Fleckenuntersuchung dienen, wobei sie die Reaktion auf Rhodaniden mittels Eisenchlorid ersetzt, die in der Regel bei derartigen Untersuchungen unbestimmte Befunde liefert.

---

[10] Beilstein, Handbuch der organischen Chemie, 1893, I 1410.

[11] Beilstein, ibid., 1410; Chem. Zentralblatt, 1907, II 896.

Zusammenfassung.

1. Die Anwendung von mit Salpetersäure angesäuerten Silbernitratlösungen steigert die Spezifität der Brunswik-Reaktion auf Blausäure und vereinfacht die Arbeitsmethodik.

2. Die Anwendung von Kaliumpermanganat ermöglicht die Nachweisung von Blausäure mittels der Brunswik-Reaktion bei Gegenwart großer Mengen Sulfidverbindungen.

3. Bei fehlender Blausäure ist diese Reaktion unter Anwendung von Kaliumpermanganat für Rhodanwasserstoffsäurebestimmungen geeignet.

Die Mikro-Barium-Kalzium-Trennung.

Von R. Strebinger.

(Aus dem Institut für analytische Chemie, Technische Hochschule, Wien.)

Als zweckmäßigstes Verfahren zur mikrochemischen Trennung des Bariums vom Kalzium erschien mir die Chromatmethode, um so mehr, da die Bestimmung des Bariums als Chromat keinerlei Schwierigkeiten bieten soll[1]. Durch Fällung mit Ammonchromat erzielte auch E. Gartner[2], unter Benützung des Sedimentierröhrchens, brauchbare Werte, leider ist in dieser Arbeit die Fällungsvorschrift nicht erwähnt. Auch F. Emich[3] verweist diesbezüglich nur auf das bekannte Lehrbuch der Makroanalyse von Treadwell.

Als Ergebnis meiner vielen diesbezüglichen Versuche möchte ich erwähnen, daß ich brauchbare Werte bei der mikroanalytischen Bestimmung nur nach dem Verfahren von Skrabal und Neustadtl[4] erhielt, durch Fällung der heißen, mit Ammonazetat im Ueberschuß versetzten Lösung des Bariumsalzes mit Ammonbichromat. Nach erfolgtem Filtrieren in ein Pregl sches Filterröhrchen, Waschen mit Ammonazetatlösung und schließlich mit wenig kaltem Wasser wird der Niederschlag im Regenerierungsblock bei 140° getrocknet, da bei einer Temperatur von 105° alle Resultate viel zu hoch waren. Nach den Angaben von Fresenius[5] enthält derselbe bei 110° noch immer 0,5% Wasser. Doch stellt auch das höher getrocknete Bariumchromat keine einwandfreie Wägungsform für die Bestimmung des Bariums dar.

Versuche, das filtrierte Bariumchromat zu glühen, um sicher ein wasserfreies Produkt zu erhalten, habe ich unterlassen, da das geglühte Bariumchromat wegen seiner Schwerlöslichkeit in Salpetersäure, im Mikro-Sinter oder Neubauer-Tiegel die Filtrierschichte verunreinigen würde und die Tiegel dadurch für andere Bestimmungen unbrauchbar würden.

Da ich nun einerseits die gute Brauchbarkeit der Bestimmung des

---

[1] Siehe Klein-Strebinger: Fortschritte der Mikrochemie. Verlag Deuticke, Wien, S. 325.

[2] E. Gartner, Monatshefte f. Chemie 41, 494.

[3] F. Emich, Lehrbuch der Mikrochemie, 2. Aufl., Verlag Bergmann, München, S. 170.

[4] Skrabal und Neustadtl, Zeitschrift f. analyt. Chemie 44, 744.

[5] Fresenius, Zeitschr. f. analyt. Chemie 29, 413.

Bariums als Bariumsulfat, die H. Häusler[6], E. Schwarz-Bergkampf[7] und andere erwähnen, voll bestätigen kann, anderseits mir das Bariumchromat als die am besten geeignete Trennungsmethode des Bariums vom Kalzium erschien, habe ich nachstehendes Verfahren ausgearbeitet, welches beide Vorteile in sich vereinigt.

Bringt man nämlich das filtrierte Bariumchromat nach erfolgter Trennung vom Kalzium — wobei es gleichgültig ist, ob die Trennung durch einmalige oder doppelte Fällung erzielt wurde — durch verdünnte Salpetersäure in Lösung und reduziert das Chromat in Chromisalz, so kann das Barium einwandfrei als Bariumsulfat gefällt und bestimmt werden. Um eine Verunreinigung des Niederschlages durch Chromisalze zu vermeiden, fälle ich vorerst diese mit Ammoniak und gleich darauffolgend, ohne zu filtrieren, in der schwach ammoniakalischen Lösung das Barium mit Ammonsulfat, löse durch Zugabe von Salpetersäure das Chromihydroxyd und filtriere den übrigbleibenden, nunmehr ganz reinen Bariumsulfatniederschlag ab. Die Bestimmung des Kalziums geschieht dann aus dem mit Essigsäure schwach angesäuerten Filtrat vom Bariumchromat mit Ammonoxalat in der Wärme, Sammeln des Niederschlages im Preglschen Filterröhrchen, Trocknen bei 110° und Wägen als $CaC_2O_4 . H_2O$, einer Wägungsform, welche schon verschiedentlich[8] mit Erfolg angewendet wurde. Die Fällung aus essigsaurer Lösung ist in diesem Falle unbedingt der aus ammoniakalischer vorzuziehen, wegen der Anwesenheit der Chromationen und einer damit verbundenen eventuellen teilweisen Reduktion dieser durch das Oxalat.

Durch direktes Fällen des Bariumsulfates mit verdünnter Schwefelsäure aus der salpetersauren Lösung des Bariumchromates erhielt ich, vermutlich durch Mitfällen von Chromat, stets zu hohe Werte.

Experimenteller Teil.

Zu meinen Versuchen verwendete ich eine Lösung von chemisch reinem Bariumchlorid, deren Gehalt makrochemisch durch Eindampfen in einer Platinschale und nachfolgendem Ueberführen in Sulfat ermittelt wurde.

1 ccm $BaCl_2$-Lösung = 1,245 mg Ba

---

[6] H. Häusler, Zeitschr. f. analyt. Chemie 64, 371.

[7] E. Schwarz-Bergkampf, Zeitschr. f. analyt. Chemie 69, 330.

[8] Siehe Klein-Strebinger, Fortschritte der Mikrochemie, Verlag Deuticke, Wien, S. 323.

Die in einer Pregl schen Bürette[9] genau abgemessene Lösung wird in einer Fällungseprouvette mit ungefähr 1 ccm Ammonazetatlösung (150 g im Liter) im Wasserbad auf zirka 80° erwärmt und mit Ammonbichromat (100 g im Liter) in geringem Ueberschuß gefällt. Nach dem Erkalten in ein bei 140° getrocknetes und gewogenes Filterröhrchen in bekannter Weise übergesaugt, wobei zu erwähnen wäre, zuerst soweit wie möglich die klare, über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit abzuhebern, das am Boden der Eprouvette befindliche Bariumchromat mit kalter Ammonazetatlösung aufzuschlämmen und nun in das Filterröhrchen zu saugen. Kleine Niederschlagsanteile haften hartnäckig am Glase und können durch abwechselndes Spülen mit Alkohol und Ammonazetat meist quantitativ entfernt werden. Zuletzt wird mit möglichst wenig kaltem Wasser nachgewaschen, um die letzten Anteile von Ammonazetat zu entfernen. Schließlich wie üblich getrocknet, jedoch bei 140°, und gewogen.

Tabelle I

ccm	$BaCrO_4$	Ba gefunden	Ba berechnet	△ mg
5	11,597	6,288	6,225	+0,063
5	11,582	6,278	6,225	+0,053
3	6,928	3,756	3,735	+0,021
3	6,910	3,746	3,735	+0,011
1	2,306	1,250	1,245	+0,005
1	2,317	1,256	1,245	+0,011
0,5	1,154	0,625	0,622	+0,003
0,5	1,167	0,634	0,622	+0,012

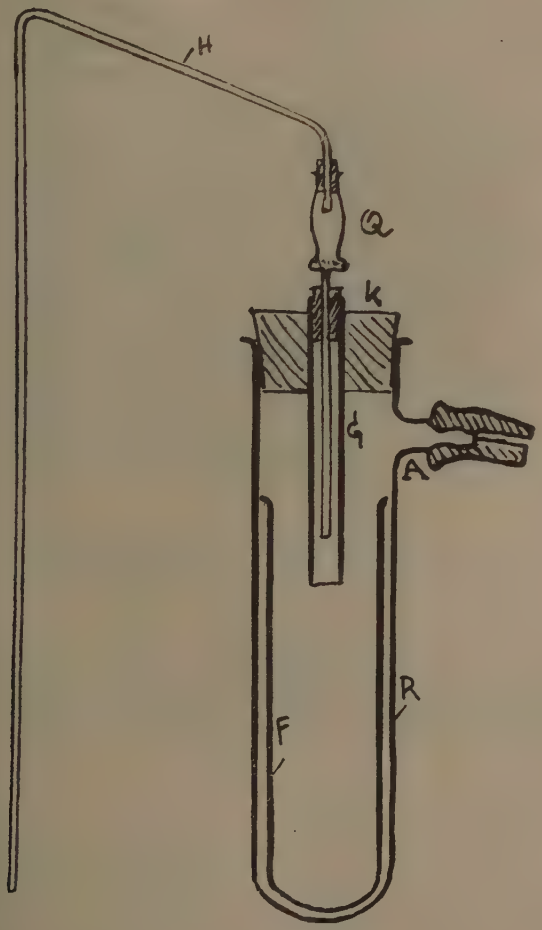
Wie ersichtlich, fallen die Werte etwas zu hoch aus, insbesondere bei höherem Bariumgehalt, was sicherlich im Wassergehalt des Niederschlages seine Ursache hat.

Die einzige Schwierigkeit bietet eigentlich nur das quantitative Ueberführen ins Filterröhrchen der an den Glaswänden haftenden Niederschlagsteile, das in der früher beschriebenen Weise nicht immer gelingt.

Im folgenden sollen nun die Versuche der Bestimmung des Bariums als Bariumsulfat aus der salpetersauren Lösung des gefällten Chromates beschrieben werden. Die direkte Fällung mit verdünnter Schwefelsäure

[9] Ich verwende Büretten auf der Vorratsflasche mittelst Glasschliff montiert, welche eine automatische Nachfüllung gestatten.

scheiterte an dem Umstande, daß das erhaltene Bariumsulfat erhebliche Mengen an Chromaten zurückhält, so daß die Mehrzahl der erhaltenen Zahlen unbrauchbar waren.



Wesentlich anders war das Ergebnis nach vorheriger Fällung der zu Chromiionen reduzierten Chromationen. Das Ausfällen des Bariumchromates geschieht wie früher angegeben. Nach dem Aufschlämmen mit Ammonazetatlösung wird der Anteil des Niederschlages, der durch Abspritzen mit Ammonazetat leicht auf den Filter eines nicht gewogenen

Filterröhrchens gebracht werden kann, abgehebert und trockengesaugt. Unter Verwendung der Saugeprouvette R wird nun unter sehr langsamem Saugen durch das Heberrohr H, das nicht abgenommen wurde, heiße Salpetersäure (1 : 1) zur Lösung des Niederschlages am Filter in möglichst geringem Ueberschuß aufgebracht. Zum Auffangen des gelösten Bariumchromates kann mit Vorteil die vorherige Fällungseprouvette F benützt werden, in der noch Reste von Bariumchromat an den Glaswänden haften. Nach dem quantitativen Nachspülen mit warmem Wasser und kurzem Abspritzen des Zwischenstückes G samt dem Hals des Filterröhrchens, die Fällungseprouvette ist jetzt höchstens zu einem Drittel voll, wird diese aus der Saugeprouvette genommen und mit einem Tropfen (!) Alkohol versetzt und im kochenden Wasserbad eine halbe Stunde belassen. Das gelbe Filtrat wird dunkelgrün. Man läßt erkalten, wobei die dunkelgrüne Färbung meist in Violett übergeht, fällt mit Ammoniak in geringem Ueberschuß, läßt abermals eine halbe Stunde im kochenden Wasserbad, gibt zur heißen Lösung Ammonsulfat und schließlich Salpetersäure in geringem Ueberschuß, um nach Absitzen des gebildeten Bariumsulfats dieses in der üblichen Weise im Mikro-Neubauer nach P r e g l zu bestimmen. Natürlich entfällt hiebei das Auswaschen nach dem Glühen, wie es für die Bestimmung des Sulfations notwendig ist.

Mehr Alkohol als höchstens zwei Tropfen dürfen zur Reduktion nicht verwendet werden, da sonst später bei Zugabe der Salpetersäure beim Erwärmen stürmisches Aufschäumen unter Bildung von Stickoxyden eintritt.

Tabelle II

ccm	Auswage mg $BaSO_4$	mg Ba gefunden	mg Ba berechnet	Differenz mg
5	10,585	6,229	6,225	△+0,004
5	10,611	6,244	6,225	△+0,019
2	4,238	2,494	2,490	△+0,004
2	4,244	2,498	2,490	△+0,008
0,5	1,054	0,620	0,623	△−0,003
0,5	1,061	0,624	0,622	△−0,002

Die Werte sind entschieden besser als die bei Anwendung der Chromatmethode erhaltenen.

Die Trennung des Bariums vom Kalzium erfolgt nun in analoger Weise, nur wird das Filtrat vom Bariumchromat in einer Proberöhre in

der Saugeprouvette zur darauffolgenden Bestimmung des Kalziums als Oxalat gesammelt, nach dem Zusetzen einiger Tropfen verdünnter Essigsäure im Wasserbad auf 50° erwärmt und mit Ammonoxalat ausgefällt. Nach zweistündigem Stehen ins Filterröhrchen filtriert, mit essigsäurehältigem Wasser gewaschen, bei 110° getrocknet und gewogen.

Tabelle III

1 ccm $BaCl_2$ = 1,245 mg Ba
1 ccm $CaCl_2$ = 0,998 mg Ca

	ccm	Auswage mg	Gefunden mg	Berechnet mg	△mg
Ba	5	$BaSO_4$ 10,604	6,240	6,225	+0·015
Ca	1	$CaC_2O_4 . H_2O$ 3,674	1,006	0,998	+0·010
Ba	0,5	$BaSO_4$ 1,067	0,629	0,622	+0·006
Ca	3	$CaC_2O_4 . H_2O$ 11,033	3,026	2,994	+0·032

Wie aus den Analysenzahlen ersichtlich, ist sowohl bei niederem wie bei höherem Kalziumgehalt nur eine einmalige Fällung nötig, was auch mit den Beobachtungen Kolthoffs[10] übereinstimmt, doch würde auch eine zweimalige Fällung keinerlei Schwierigkeiten bereiten.

Zusammenfassung.

Es wurde gezeigt, daß die Bestimmung des Bariums als Chromat in der Regel zu hohe Werte ergibt.

Durch Ueberführen des Chromats nach erfolgter Lösung in Salpetersäure in das Sulfat sind nur dann befriedigende Resultate zu erhalten, wenn die vorhandenen Chromationen vorher zu Chromiionen reduziert werden.

Die Trennung des Bariums vom Kalzium bietet dann keinerlei Schwierigkeiten und ist mit einmaliger Fällung zu erreichen.

[10] Kolthoff, Pharm. Weekblad 57 (1920), 972.

Bericht über eine Halb-Mikromethode zur Kleberbestimmung in Mehlen[1].

Von A. C. Röttinger.

(Aus der Lebensmittelversuchsanstalt der Industrie, des Handels und des Gewerbes, Wien, XVIII.)

Die bisher geübte Makromethode zur Bestimmung des Klebergehaltes in Mehlen weist eine Reihe von Fehlerquellen auf. Vor allem ist das Auswaschen eines etwa 40 g schweren Teigstückes[2] nicht nur eine langwierige, sondern auch schwer durchführbare Angelegenheit, wenn man die Forderung nach völlig exakter Arbeitsweise erhebt. Auch das Sammeln zerstreuter Kleberteilchen gelingt oft nicht restlos. Der Wassergehalt des „nassen" Klebers ist sehr dem Zufall unterworfen und die Wassereinschlüsse sind von wechselnder Art und Menge. Das Trocknen des Klebers endlich bereitet die meisten Schwierigkeiten; während die „Vereinbarungen" eine Temperatur von 105° vorschreiben, wählen andere Autoren teils andere Temperaturen (meist 120°), teils trocknen sie im Vakuum, teils benützen sie eigene Vorrichtungen, um dem Kleber eine möglichst große Oberfläche zu geben[3]. Trotz aller Vorsichtsmaßnahmen sind jedoch bei Parallelversuchen Schwankungen von 0,5% selten zu vermeiden.

Es war vorauszusehen, daß alle diese Fehler kleiner werden, wenn kleinere Substanzmengen verwendet werden. Als geeignete Einwage wurde ein Gramm Mehl erkannt, einerseits, um durch noch kleinere Mengen nicht die Egalität der Probe in Frage zu stellen, anderseits, um bei der praktischen Anwendung der Methode im Betriebe mit einer auf 0,01 g genauen Wage das Auslangen zu finden.

Um diese Mehlmenge verlustlos auf Kleber zu untersuchen, wurde folgende Arbeitsweise eingeschlagen und ein hiezu geeigneter Apparat für Serienbestimmungen konstruiert[4]:

---

[1] Siehe Röttinger u. Woidich, Zeitschr. f. d. gesamte Getreidewesen, Berlin, Jahrg. 15, Heft 6, pag. 140.

[2] Vereinbarungen zur einheitlichen Untersuchung und Beurteilung von Nahrungs- und Genußmitteln f. d. Deutsche Reich.

[3] Neumann u. Salecker, Zeitschr. f. Untersuchung der Lebensmittel 1908, Bd. 15, pag. 785. — W. Brenner, ebendort 1907, Bd. 14, pag. 682. — Rammstedt, Zeitschr. f. angewandte Chemie 1909, Bd. 22, pag. 16.

[4] Der Apparat wird erzeugt: für Oesterreich von der Firma J. W. Rohrbecks Nachf., Wien, V. Wehrgasse 18; für Deutschland von der Firma „Mühlenchemie" G. m. b. H., Frankfurt am Main, Lindenstraße 27.

1 g Mehl auf 0,01 g genau gewogen, werden in einen kleinen Beutel aus geeignetem Stoff und von entsprechender Form gebracht und mit ein paar Tropfen Wasser zu einem Teig angeknetet, den man eine halbe Stunde ruhen läßt; der Beutel wird hierauf unter einem dünnen Wasserstrahl ausgeknetet. Das Ende der Operation kann durch die Jodprobe kontrolliert werden; der Kleber bleibt im Beutel als zusammenhängendes Würstchen oder Kügelchen zurück; die Trocknung erfolgt auf kleinen Metallschälchen, die auf einem entsprechenden Gerüst in eine Eprouvette eingeführt werden; letztere wird in ein kochendes Wasserbad gehängt und evakuiert; die ganze Bestimmung ist einschließlich des Teigrastens und Trocknens in zirka zwei Stunden beendet.

Nachstehend seien die Analysenresultate wiedergegeben:

Nr.	Makro-methode	Mikro-methode	Größte Differenz	
			Makro	Mikro
[1] I	13.4	12.9		
II	13.7	13.0	1.3	0.1
III	12.4	13.1		
[2] I	10.5	10.4		
II	9.7	10.6	0.8	0.2
[3] I	9.1	9.2		
II	8.8	9.2	1.2	0.2
III	10.0	9.0		
[4] I	8.2	8.1		
II	7.8	8.3	0.7	0.3
III	8.5	8.0		
[5] I	6.8	5.8		
II	5.0	5.4	1.8	0.4
III	6.2	5.6		
[6] I	12.9	12.7		
II	12.1	12.6	0.8	0.1
[7] I	8.7	9.6		
II	9.6	9.4	0.9	0.2
[8] I	9.5	9.2		
II	8.7	9.3	2.7	0.3
III	11.4	9.3		
[9] I	11.1	11.3		
II	11.5	11.3	0.4	0.0
[10] I	—	8.87		
II	—	9.14	—	0.38
III	—	8.76		

Nr.	Makro-methode	Mikro-methode	Größte Differenz	
			Makro	Mikro
[11]) I	—	9.78	—	0.15
II	—	9.93		
[12]) I	—	9.13		
II	—	8.81	—	0.32
III	—	9.03		
[13]) I	—	8.31		
II	—	8.35	—	0.16
III	—	8.19		
[14]) I	—	8.8	—	0.2
II	—	9.0		
[15]) I	—	8.3	—	0.2
II	—	8.5		

Daraus ist ersichtlich, daß die Differenzen bei Parallelbestimmungen im Mittel 0,2% betragen.

In der Praxis der Mühlen- und Bäckereibetriebe hat sich als Kennzahl der Wert des Naßklebers eingebürgert, welcher makro relativ einfach ermittelt werden kann, bei Parallelbestimmungen jedoch Differenzen bis zu 5% aufweist. Es wurde nun versucht, einen Faktor zu finden, mit welchem die Werte des Mikrotrockenklebers auf Makronaßkleber umgerechnet werden können. Die direkte Bestimmung des Mikronaßklebers führte deshalb nicht zum Ziele, weil dem kleinen Kleberkügelchen viel weniger Wasser anhängt als dem großen Kleberstück, die Werte daher viel zu niedrig (um 10% und mehr) ausfielen, so daß für den Praktiker wieder keine Vergleichsmöglichkeiten mit den bisher bekannten Werten gegeben war.

Zur Berechnung eines geeigneten Umrechnungsfaktors wurde folgendes Untersuchungsmaterial herangezogen, wobei die Bestimmungen des Makronaßklebers von einem erfahrenen Praktiker ausgeführt wurden, also jene Werte vorstellen, die die Praxis zur Beurteilung der Mehle heute verwendet.

Nr.	Mikro-Trockenkleber	Makro-Naßkleber	Faktor
16	9.85	29.6	3.01
17	8.28	24.8	2.99
18	9.22	31.8	3.44
19	10.25	34.0	3.31
20	9.65	32.5	3.37

Nr.	Mikro-Trockenkleber	Makro-Naßkleber	Faktor
21	9.46	32.6	3.44
22	8.00	26.9	3.36
23	9.57	34.8	3.63
24	9.00	31.3	3.48
25	9.91	24.0	2.42
26	8.72	25.5	2.92
27	11.91	34.0	2.88
28	12.64	33.0	2.61
29	12.29	34.0	2.77
30	13.48	38.0	2.82
31	18.10	48.0	2.66
32	18.46	46.5	2.52
33	10.70	31.5	2.94
34	12.40	36.0	2.90
35	12.20	32.5	2.66
36	19.28	52.5	2.72

Aus diesen Versuchen errechnet sich ein mittlerer Faktor von 2,95, das ist abgerundet 3. Die nach vorstehender Mikromethode erhaltenen Werte für Trockenkleber sind daher mit 3 zu multiplizieren, um jene Werte zu erhalten, die nach dem bisher üblichen Verfahren als Naßkleber von der Praxis der Bewertung von Mehlen zugrunde gelegt werden.

Ein neuer Apparat zur Gewinnung von Pflanzenaschen für Aschenbildbestimmungen.

Von Othmar Werner.

(Lehrkanzel für Botanik der Hochschule für Bodenkultur, Wien.)

Für Zwecke der pflanzlichen Histochemie bedienen sich Botaniker, Pharmakognosten, Warenexperten, Holzfachleute und andere Untersucher vegetabilischer Produkte[1], insbesondere seit Molisch[2], in steigendem Maße des Aschenbildes. Hat doch dieses den großen Vorteil übersichtlicher Erschließung vielfach vorhandener organischer Formanteile der Zelle. Hiebei läßt die Methode an Einfachheit nichts zu wünschen übrig: durch starkes Erhitzen werden Organe oder Organteile in möglichst kohlefreie Asche verwandelt. Diese wird unter Vermeidung allzu starken Zerbrechens in ein Medium geeigneter Lichtbrechung gebracht; die hier gesehenen Körper werden dann durch Reaktionen mikrochemisch bestimmt, häufig lassen auch Gestalt (Raphiden) oder optisches Verhalten (rötlicher Glanz von Verkieselungen in Phenol) weitgehend auf den Chemismus schließen.

Der mikrochemische Vorteil, anorganische Körper — wo es angeht — in der Asche und nicht in dem reaktionshemmenden kolloiden Milieu der Zelle zu untersuchen, ist einleuchtend. Bei der mikrochemischen Untersuchung der Asche ermöglicht das Aschenbild weitgehende Lokalisation der Reaktionen auf Kalk, auf Kieselsäure usw., erhöht daher den histochemischen Wert dieser Reaktionen.

Bei umfangreicheren Aschenbilduntersuchungen für die Praxis der Landwirtschaft[3] empfand ich folgende Mängel der früher üblichen Veraschungsart im Porzellantiegel:

1. Die für praktische Zwecke oft notwendige gleichzeitige Veraschung zahlreicher, getrennt zu behandelnder Objekte läßt sich nicht mit wünschenswerter Platzökonomie durchführen.

---

[1] Vgl. die Aufzählung neuerer, das Aschenbild betreffender Arbeiten bei Kisser, 1928, Biologia generalis, Bd. IV, S. 131.

[2] Molisch, H., 1920, Aschenbild und Pflanzenverwandtschaft, Sitzber. Akad. Wissensch. Wien, math.-naturw. Kl., Bd. 129, Abt. I, S. 261. — 1923, Mikrochemie der Pflanze, 3. Aufl., Jena. — 1927, Anatomie der Pflanze, 3. Aufl., Jena.

[3] Werner, O., 1928, Blattaschenbilder heimischer Wiesengräser als Mittel ihrer Verwandtschafts- und Wertbestimmung, Biologia generalis, Bd. IV, S. 403.

2. Der erzielte Veraschungsgrad ist häufig bei ein und demselben Stück ungleichmäßig, da beim vielfach eintretenden Krümmen der Objekte ein dem Boden anliegender Teil rasch kohlefrei wird, während die frei in den Tiegelraum ragenden Teile nur sehr langsam entkohlt werden.

3. Die Temperatur, welche zur Vermeidung des Sinterns feinerer Strukturen eine gewisse Grenze nicht überschreiten darf, läßt sich wegen der durch Punkt 2 dargelegten ungleichmäßigen Erhitzung der Objekte schwer dosieren.

4. Aschenverluste durch Wegfliegen von Asche mit dem aufsteigenden heißen Luftstrom aus dem notwendigerweise wegen genügender Luftzufuhr offenen Tiegel kommen nicht selten vor.

5. Das Uebertragen der Asche in das Einbettungsmedium wird durch Kleben dieser am Porzellan bei Anwendung zu hoher Temperaturen und durch die Tiefe des Gefäßes behindert.

6. Die vielfach gekrümmten und gerollten Aschen zerbrechen bei der üblichen mikroskopischen Präparation zwischen Objektträger und Deckglas beim Ebenlegen im Einbettungstropfen oft so stark, daß einer der größten Vorteile des Aschenbildes, die mikroskopische Uebersicht, verlorengeht.

Eine Anordnung zur Behebung dieser Nachteile war bisher nicht vorhanden. Zwar versuchte man, im Sauerstoffstrom zu veraschen[4], doch gestattet dieses Verfahren bloß, durch schwaches Erhitzen bei guter Entkohlung allerfeinste Strukturen zu schonen, eine im allgemeinen durchaus nicht nötige Rücksicht. Die Einfachheit der ursprünglichen Untersuchungsmethode, in Luft gewöhnlicher Zusammensetzung zu veraschen, wird damit aufgegeben, aber keineswegs jeder Nachteil beseitigt.

Mein Bestreben war also darauf gerichtet, durch eine geeignete Anordnung alle oben aufgezeigten Unzulänglichkeiten zu vermeiden. Mit dankenswerter Unterstützung der Firma „Vereinigte Fabriken für Laboratoriumsbedarf", G. m. b. H., Berlin N 39, Scharhorststraße 22, und ihrer Wiener Filiale, Dr. Albert Veit, gelang es mir, einen bei der genannten Firma käuflichen Apparat zu konstruieren, der in jeder Hinsicht befriedigte. Obzwar dieser Apparat von mir bereits an anderem Orte (Werner, O., 1928, l. c.) beschrieben wurde, erachte ich es dennoch für zweckmäßig, auch in dieser Zeitschrift auf denselben einzugehen, da

[4] Schoeller, A., 1922, Mikro-Veraschung, Ber. deutsch. chem. Ges., 55, S. 2191. Policard, A., 1924, La microincinération et son intérêt dans les recherches histochimiques, I., Bulletin d'Histologie etc., T. 1, S. 26.

die durch ihn vermittelte Arbeitsweise zum Teil mikrochemischer Natur ist. Außerdem konnte ich inzwischen die allgemeine Anwendbarkeit des Apparates an einer größeren Zahl botanisch-systematisch verschiedener Objekte erproben.

Bei der folgenden Beschreibung des Apparates und der Arbeitsweise halte ich mich im wesentlichen an meine früheren Angaben.

Der Veraschungsapparat (Fig. 1) besteht aus einem eisernen, 20 cm hohen Gestell, dessen rechteckiger Rahmen (12 × 48 cm) mit einem

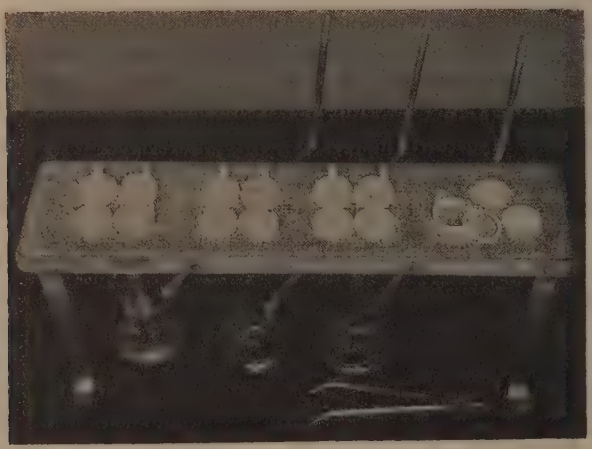


Fig. 1. Veraschungsapparat; nähere Beschreibung im Text. 1/6 der natürlichen Größe.

auswechselbaren, auf Drahteinlage geflochtenen Asbestnetz bespannt ist; auf dieses kommen bei voller Benützung der Fläche, 20 Veraschungstellerchen in Gruppen von je vier zu liegen (Fig. 1 zeigt drei Gruppen und ein zerlegtes Tellerchen); jede Gruppe von vier Tellerchen wird durch einen großen, mit gaszuleitendem Messingrohransatz versehenen Teclubrenner (18 cm hoch, 15 mm Weite der oberen Oeffnung), welcher in der Regel mit voller entleuchteter Flamme zu brennen hat, angeheizt. Die in Aluminium ausgeführten Veraschungstellerchen (Fig. 2 und 3) bestehen aus dem Rahmen (R) und zwei gelochten Plättchen (P), welche durch einen Zwischenring (Z) (bei dickeren Objekten zwei bis mehrere Zwischenringe) auseinandergehalten werden. In dem so entstehenden Raum, in welchen durch die Löcher der Plättchen reichlicher Luftzutritt möglich ist, wird verascht (A = Asche); hier ist ein stärkeres Krümmen

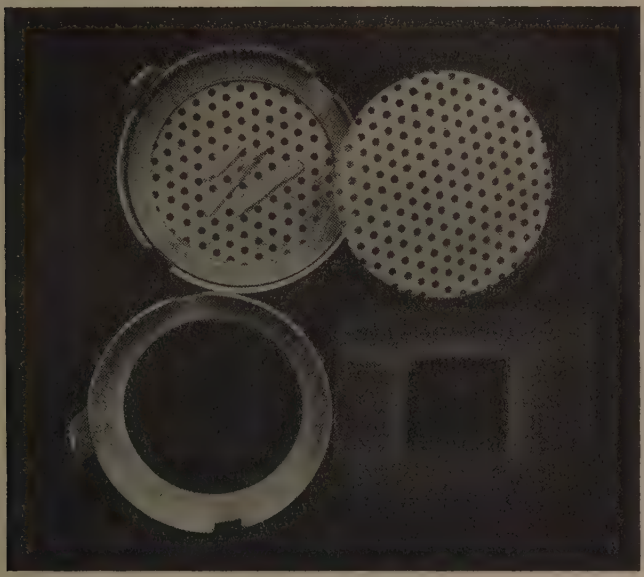


Fig. 2. Oben ein Veraschungstellerchen mit abgehobenem oberen gelochten Plättchen, drei veraschte Blattstücke enthaltend; unten links der Rahmen des Tellerchens, rechts ein Aschenpräparat. Natürliche Größe.

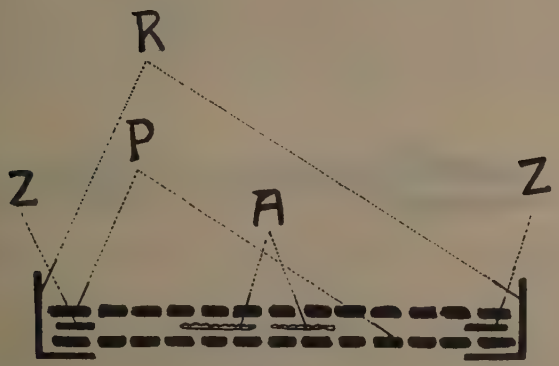


Fig. 3. Schematischer Querschnitt durch ein Veraschungstellerchen; nähere Beschreibung im Text. Zweimal vergrößert.

der Asche unmöglich, die zu veraschenden Pflanzenstücke sind also in allen ihren Teilen fast gleicher Temperatur ausgesetzt und veraschen gleichmäßig. Zur Kontrolle des Veraschungsgrades kann während des Verbrennens mit Hilfe einer Pinzette das obere Plättchen abgehoben werden. Die Veraschungszeit beträgt gewöhnlich ungefähr eine halbe bis eineinhalb Stunden. Nach dieser Zeit ist die Asche meist in wünschenswerter Weise weiß.

Es sei hier anschließend der früher (Werner, O., 1928, l. c.) erprobte Gang der weiteren Präparation der Asche unter besonderer Berücksichtigung der zur Betrachtung von Verkieselungen vielbenützten Phenoleinbettung wiedergegeben.

Die Asche wird folgendermaßen zur mikroskopischen Beobachtung präpariert: In die Mitte eines Deckglases 30×40 mm wird ein entsprechend großer Tropfen einer Flüssigkeit geeigneten Lichtbrechungsvermögens, zum Beispiel Phenol, gebracht. In diesen wird die Asche mit Hilfe einer Nadel, deren Spitze mit Phenol (beziehungsweise der betreffenden Flüssigkeit) benetzt ist, überführt; man kann auch die Asche von dem Plättchen unter gelindem Klopfen desselben in den Tropfen gleiten lassen. Sodann wird mit einem Deckglas 20×20 mm bedeckt und mit Paraffin zur Vermeidung des Abdunstens der Einschlußflüssigkeit umrandet, wobei man am besten so vorgeht: In einer Porzellanschale wird Paraffin, welches mit Hilfe eines Mikrobrenners wenig über Schmelztemperatur flüssig erhalten wird, bereitgestellt. Das Präparat wird senkrecht bis knapp über die untere Kante des kleineren Deckglases kurz eingetaucht und das anhaftende Paraffin nach dem Herausziehen durch Schiefhalten des Präparates so erstarren gelassen, daß über der Kante des kleineren Deckglases die Paraffindecke am höchsten ist. Das Eintauchen und Erstarrenlassen wiederholt sich den vier Kanten entsprechend viermal, so daß das kleinere Deckglas schließlich vollständig durch Paraffin umrandet ist (Fig. 2 und 4). Selbstverständlich

Fig. 4. Schematischer Querschnitt durch ein Aschenpräparat. Die Asche, wie in Fig. 3 eingezeichnet, die beiden Deckgläser als Striche erscheinend, Phenol punktiert, Paraffinumrandung schwarz. Zweimal vergrößert.

muß unter dem Rande des kleineren Deckglases vortretendes Phenol vorher und eventuell während des Umrandens mit einem Filterpapierstreifen abgesaugt werden. Am Rande können die Präparate durch Schrift in Paraffin gekennzeichnet werden. Der Hauptvorteil dieser Me-

thode liegt darin, daß die zwischen zwei Deckgläsern liegende Asche leicht von beiden Seiten mikroskopiert werden kann, was bei der häufigen Verschiedenheit der Ober- und Unterseite des Blattes oder der beiden Seiten grober Schnitte durch andere Organe für die rasche Diagnose sehr wichtig ist. Eine vielfach empfohlene Behandlung der Asche mit Salzsäure vor dem Einbetten in die Einschlußflüssigkeit ist zur Erkennung der unter den organischen Stoffen hier fast allein ungelöst bleibenden Kieselsäure dienlich. Zur Anfertigung von praktisch unbegrenzt haltbaren Dauerpräparaten wird als Einschlußmittel Kanadabalsam oder ein anderes Harz geeigneten Lichtbrechungsvermögens gewählt. Die Paraffinumrandung entfällt bei diesen Medien.

Sammelreferate:

Der Phosphor.

A. Qualitativer Teil.

Von Fritz Feigl, Wien.

Die Methoden zur Erkennung der Phosphorsäure gehen vornehmlich von der bekannten Ammonmolybdatreaktion aus, da diese bisher die einzige (bei Abwesenheit von Arsensäure) spezifische und in saurer Lösung durchführbare Nachweisreaktion ist. Von Verbesserungen der Phosphormolybdatfällung ist vor allem der Ersatz der Ammoniumgruppe durch hochatomige organische Basen bemerkenswert, durch welche eine größere Unlöslichkeit des Fällungsproduktes und damit auch eine schnellere Abscheidung bewirkt werden kann. P. Medinger (Ch. Ztg. 1915, 701; vgl. auch J. M. Kolthoff, Pharm. Weekbl. 54, 1005) einverleibt der Ammonmolybdatlösung Strychninnitrat und ermöglicht dadurch einen Nachweis von P_2O_5 mit einer Empfindlichkeit 1 : 10,000.000, wodurch sich auch die Möglichkeit bietet, Phosphate im Trinkwasser schnell und sicher zu erkennen. Zur Herstellung der Reagenzlösung wird eine filtrierte Lösung von 40 g Ammonmolybdat in 100 ccm Wasser unter Schütteln mit so viel einer gesättigten (zirka 1%igen) Lösung von Strychninnitrat versetzt, bis eine anfangs entstehende Trübung nicht mehr verschwindet; die so erhaltene Lösung wird in ein gleich großes Volumen konzentrierter HNO_3 (D = 1,4) eingegossen, über Nacht stehen gelassen und dann in Tropffläschchen filtriert. Zur Prüfung auf P_2O_5 werden in einem Proberöhrchen 20 Tropfen Reagenzlösung mit 10 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit versetzt und geschüttelt. Tritt innerhalb 20 bis 30 Sekunden eine Trübung (von Strychnin-Phosphormolybdat) ein, so ist dieselbe für P_2O_5 charakteristisch. Längeres Zuwarten ist unzulässig, da Ca, Mg, SiO_2, Fe und organische Substanzen nach langem Stehen Trübungen bewirken.

C. Denigès (Compt. rend. 171, 802, 1920) versetzt 5 ccm der auf P_2O_5 zu prüfenden Lösung mit 8 bis 10 Tropfen einer 10%igen Ammonmolybdatlösung, die mit dem gleichen Volumen konzentrierter H_2SO_4 vermischt ist, und hierauf mit 1 bis 2 Tropfen einer 1%igen $SnCl_2$-Lösung; bei Gegenwart von P_2O_5 entsteht eine Blaufärbung, die durch weiteren Zusatz von $SnCl_2$ intensiver wird und die durch Aether ausschüttelbar ist. Die Erfassungsgrenze beträgt 5μg in 5 ccm, was einer Empfindlichkeit 1 : 1,000.000 entspricht. Organische Substanzen beeinträchtigen die

Empfindlichkeit dieses Nachweises nicht, Fluoride können durch Borsäurezusatz komplex gebunden und dadurch unschädlich gemacht werden. Der vorstehend angeführte P_2O_5-Nachweis kann auch mit stärkeren $SnCl_2$-Lösungen ausgeführt werden, wobei die Braunfärbung durch dabei gebildete niedere Molybdänoxyde nicht stört, da das Molybdänblau mit Amylalkohol oder Aether ausschüttelbar ist. Die eigenartige Beständigkeit des Molybdänblau bei Gegenwart von P_2O_5 (sowie auch As_2O_5) führt F. Feigl (Zeitschrift für anal. Chem. 61, 454, 1922) auf eine Besonderheit der Reaktionsfähigkeit der an Phosphorsäure komplex gebundenen MoO_3-Moleküle zurück. Sie drückt sich auch im Verhalten gegen Benzidin unter geeigneten Bedingungen aus, welche einen Tüpfelnachweis von P_2O_5 ermöglichen. Werden auf Filtrierpapier nacheinander je 1 Tropfen der Probelösung, der sogenannten Woy'schen salpetersauren $(NH_4)_2MoO_4$-Lösung und Benzidinhydrochlorid aufgetragen, dann über NH_3 gehalten oder mit einem Tropfen Ammoniak betupft, so entsteht infolge der gleichzeitigen Bildung von Molybdänblau und eines tiefblauen Oxydationsproduktes des Benzidins auf dem Filtrierpapier ein je nach dem P_2O_5-Gehalt hell- bis schwarzblauer Fleck. Dadurch lassen sich in einem Tropfen ($v = 0{,}05$ ccm) noch 2,5 µg P_2O_5 erkennen. Auch die Reduktion von Molybdänsäurelösungen durch Kupfer läßt sich nach G. Denigès (Compt. rend. 185, 777, 1927) zu einem empfindlichen P_2O_5-Nachweis verwerten, dem folgende Erscheinung zugrunde liegt: Metallisches Kupfer reduziert eine schwefelsaure $(NH_4)_2MoO_4$-Lösung unter Blaufärbung, die sich nicht mit Aether ausschütteln läßt und bei einer Konzentration von weniger als 25% H_2SO_4 wieder verschwindet. Bei Gegenwart von Spuren P_2O_5 bleibt die Blaufärbung aber sogar in neutralen Lösungen bestehen und läßt sich durch Aether ausschütteln. Man stellt sich die Reagenzlösung durch einstündige Reduktion einer schwefelsauren $(NH_4)_2MoO_4$-Lösung mit Cu-Spänen her, dekantiert von diesen und fügt 5 Tropfen zur Probelösung. Nach kurzem Aufkochen wird schnell abgekühlt und mit Aether durchgeschüttelt. 0,15 mg P im Liter rufen noch eine deutliche Blaufärbung hervor. Auch bei diesem Nachweis stört As_2O_5, das nötigenfalls vorher mit H_2S zu entfernen ist. Es verdient daher bemerkt zu werden, daß F. Feigl (Zeitschrift für anal. Chemie 74, 387, 1928) neuerdings darauf hinweist, daß die früher angegebene Tüpfelreaktion mit Benzidin auch bei Anwesenheit von As_2O_5 für den P_2O_5-Nachweis eindeutig ist und damit noch 0,0015 mg P_2O_5 neben der 1000fachen Menge Arsensäure nachweisbar werden. Auch läßt sich der P_2O_5-Nachweis mittels Benzidin als Reagenzglasreaktion mit mikrochemischer Empfindlichkeit bei geringem

Materialverbrauch folgendermaßen durchführen: 2 ccm der Probelösung werden mit je 3 Tropfen der salpetersauren Ammonmolybdatlösung und der Benzidinlösung und hierauf mit so viel 1%igem Ammoniak versetzt, bis eine bleibende Trübung entsteht; eine gleichzeitige Blaufärbung zeigt Phosphorsäure an. Arsensäure reagiert unter diesen Bedingungen nicht und es lassen sich auf diese Weise noch 0,66µg P_2O_5 nachweisen, was einer Verdünnung 1 : 3,000.000 entspricht. Die Tüpfelreaktion auf P_2O_5 kann nach H. Leitmeier und F. Feigl (Mineral. und petrograph. Mitt., Bd. 39, 224, 1928) auch zum P_2O_5-Nachweis in der Gesteinsbestimmung, für die schnelle Erkennung von Apatiteinschlüssen in Schliffen und dergleichen herangezogen werden, da sie unmittelbar an Gesteinsproben durchführbar ist.

Die vorstehend beschriebenen Nachweise sind nach den kleinen P_2O_5-Mengen, die sie zu erfassen vermögen, als mikrochemisch zu betrachten. Der klassischen Methode der Kristallfällung bedient sich H. Kunz-Krause (Ber. 53, 1672, 1920) zur Identifizierung von $MgNH_4PO_4$ bei Mineralbestandteilen gewisser Pflanzen, sowie für den Nachweis dieser Verbindung in Harnsedimenten mittels einer mikrochemischen „Zweiphasenreaktion". Das Sediment wird in Essigsäure gelöst, mit NH_3 genau neutralisiert und mit $AgNO_3$ versetzt. Es entsteht ein eigelber käsiger Niederschlag von Ag_3PO_4, der auf Zusatz eines Tropfens Ammoniak wieder verschwindet. In diesem Augenblick beginnt jedoch in der klaren, farblosen Flüssigkeit die Abscheidung von $MgNH_4PO_4$ in Form farbloser, zu Rosetten vereinigter glänzender Prismen. Naturgemäß läßt sich diese Reaktion auch zum allgemeinen Nachweis von Phosphorsäure sowie der im Harne befindlichen Phosphate verwenden, nachdem man letztere als $MgNH_4PO_4$ ausgefällt hat. Nach Kunz-Krause bewährt sich das Verfahren auch zum Nachweis von Phosphatausscheidungen, die in Form von Zelleinschlüssen in pflanzlichen Geweben vorkommen.

Ueber die im systematischen Analysengange notwendige Entfernung von P_2O_5 vor Aufarbeitung der dritten und vierten Gruppe liegen keine besonderen mikrochemischen Angaben vor. Es erscheint jedoch wahrscheinlich, daß an Stelle der üblichen Abscheidung mittels metallischem Zinn oder mittels Zinnsäuregel (W. Mecklenburg, Zeitschrift für anal. Chemie 52, 293, 1913) auch die nachstehenden Entfernungsmethoden mikrochemisch anwendbar sind. L. Gattermann und H. Schindhelm (Ber. 49, 2416, 1916; vgl. hiezu jedoch N. Tarugi, C. 1922, 1158) entfernen auch kleine Mengen P_2O_5 in verdünnter salzsaurer Lösung durch Zusatz einer konzentrierten Lösung von

kristallisiertem $SnCl_4$ ag. Bei Siedehitze fällt Stanniphosphat neben Zinnsäure in Form eines gut filtrierten Niederschlages aus. L. J. Curtmann, C. Margulies und W. Plechner (Chem. News 129, 299, 1925) entfernen P_2O_5 in heißer salzsaurer Lösung durch Fällung mittels $ZrOCl_2$ bei Gegenwart von NH_4Cl, wobei sich $ZrOHPO_4$ bildet. Im Filtrate trennt man wie üblich Co und Ni von den anderen Elementen der $(NH_4)_2S$-Gruppe; das hiebei entstehende saure Filtrat wird dann auf 1 ccm eingedampft, in H_2O aufgenommen und mit Na_2O_2 gekocht. Ein weißer Niederschlag verweist auf Abwesenheit von Fe und Mn, die gegebenenfalls durch Identitätsreaktionen auch bei Anwesenheit von Zirkon feststellbar sind. Der Nachweis von Zn und Cr wird durch Zr nicht beeinträchtigt. Um Al nachzuweisen, ist allerdings mehrmalige Entfernung kleiner Zr-Mengen durch Fällung mit Na_2HPO_4 in saurer Lösung erforderlich. Die P_2O_5-Abscheidung mittels Zirkonsalze wurde von F. Oberhauser (Ber. 60, 36, 1927) neuerdings eingehend untersucht. Oberhauser fällt in warmer ammoniakalischer Lösung, säuert hierauf mit Essigsäure an und erhält dadurch einen Niederschlag, der das gesamte Phosphat als basisches Zirkonphosphat, das überschüssige Zirkonsalz als $Zr(OH)_4$ und den größten Teil des Eisens, Aluminiums und Chroms enthält. Schließlich ist nach A. Keschan (Zeitschrift für anal. Chemie 65, 346, 1924/25) eine gleichzeitige Entfernung von Phosphorsäure und Oxalsäure im Filtrat der zweiten Kationengruppe durch Erhitzen mit festem basischen Wismutnitrat in verdünnt saurer Lösung möglich.

B. Quantitativer Teil.

Von R. Strebinger, Wien.

I. Phosphor (elementar).

Die quantitative Bestimmung des elementaren Phosphors geschieht in der Regel durch Oxydation desselben zu Phosphorsäure, wie man überhaupt allgemein trachtet, auch den gebundenen Phosphor in das leicht bestimmbare PO_4''' umzuformen. Um annähernd kleine Mengen gelben Phosphor (unter 0,003%) im roten Phosphor zu bestimmen, kann man nach Raymond H. Kray[1] die Bildung von elementarem Kupfer und Kupferphosphid an der dadurch hervorgerufenen Bräunung eines mit Kupfersulfat (10 g $CuSO_4$ in 100 ccm Wasser) getränkten Filtrierpapierstreifens durch in Schwefelkohlenstoff gelösten gelben Phosphor benützen. Durch Lösen von 0,5 g gelben Phosphor in 100 ccm Schwefel-

[1] Raymond H. Kray: Ind. engin. Chem. 19, 816.

kohlenstoff und entsprechender weiterer Verdünnung werden Vergleichslösungen von bekanntem Gehalt (0,001 bis 0,00015 g P) hergestellt. Die mit diesen Lösungen erhaltenen Farbtöne werden verglichen mit jenem der Untersuchungslösung, die durch 24stündiges Auslaugen von 20 g rotem Phosphor mit 30 ccm Schwefelkohlenstoff gewonnen wird.

Die Umformungsverfahren von gebundenem Phosphor (hauptsächlich organisch gebunden) sind verschieden. H. Lieb[2] hat als erster systematisch eine Mikro-Phosphorbestimmung in organischen Substanzen ausgearbeitet und wählt zur Oxydation den Aufschluß im Platinschiffchen mit Soda-Salpetergemisch im Sauerstoffstrom. Er erwähnt die Brauchbarkeit anderer Aufschlußverfahren und gibt gemeinsam mit O. Wintersteiner[3] als weniger zeitraubend den neuen Aufschluß mit konzentrierter Schwefelsäure und Perhydrol an. Für besonders schwer aufschließbare Substanzen empfehlen die Verfasser statt des Perhydrolzusatzes einige Tropfen konzentrierte Salpetersäure und später mit Perhydrol weiter zu oxydieren. Da A. Zlataroff[4] die Oxydation mit Schwefelsäure und Salpetersäure als das sicherste Verfahren anrät, da bei anderen Methoden leicht Verluste eintreten, haben H. St. Raper[5], P. Iversen[6], W. Grote[7] und andere die Oxydation nach dieser Methode im Mikro-Kjeldahlkolben durchgeführt. Fast gleichzeitig mit H. Lieb empfehlen K. Josephson und K. Sjöberg[8] die Anwendung von Schwefelsäure und Perhydrol, da dadurch gleichzeitig die organische Substanz oxydiert und der Phosphor in Orthophosphation übergeführt wird. H. v. Euler und Svanberg[9] schließen im Kjeldahlkolben mit 2 ccm konzentrierter Schwefelsäure + 1 ccm 4%iger Kupfersulfatlösung durch 2 bis 4 Stunden auf. M. Cami und Bolgato[10] halten den Aufschluß mit Schwefelsäure + Salpetersäure zwar für sehr geeignet, doch bedingt die stark schwefelsaure Lösung nennenswerte Verluste durch die Löslichkeit des gefällten Ammonphosphormolybdates in dem großen Ueberschuß der Schwefelsäure. Die Verfasser fällen zur Entfernung der Schwefelsäure diese durch $BaCl_2$ in stark salpetersaurer Lösung.

---

[2] H. Lieb, Quant. Org. Mikroanalyse v. Fritz Pregl, Verlag J. Springer, 2. Aufl., S. 151.

[3] H. Lieb und O. Wintersteiner, Mikrochemie II, 78.

[4] A. Zlataroff, Biochem. Zeitschr. 76, 218.

[5] H. St. Raper, Biochemical Journal 8, 649.

[6] P. Iversen, Biochem. Ztschr. 1904, 22.

[7] W. Grote, Ztschr. physiol. Chem. 128, 254.

[8] K. Josephson und K. Sjöberg, Svensk. Kem. Tidskr. 36, 267.

[9] H. v. Euler und Svanberg, Ztschr. physiol. Chem. 112, 282.

[10] M. Cami und Bolgato, Boll. d. soc. di biol. sperin 1, 222.

A. Meixner und F. Kröcker[11] bevorzugen den Aufschluß nach H. Lieb und O. Wintersteiner[12], nur ist zu achten, daß tatsächlich völliger Aufschluß eingetreten ist, da eine klare Lösung allein dies nicht verbürgt. Als Kennzeichen einer vollkommenen Oxydation geben sie an das Klarbleiben des Schwefelsäuretropfens, nachdem das ganze Perhydrol verbraucht ist, nach einigen Minuten Zuwartens. P. Fleury und Z. Sutu[13] veraschen nach Fontès und Thivolle, ein Verfahren, das sie dem nach Neumann vorziehen. M. Macheboef und G. Zwilling[13a] oxydieren mit konzentrierter Schwefelsäure + Kaliumpermanganat unter vorsichtigem Erwärmen.

II. Orthophosphation.

A. Gravimetrisch. Schon J. Donan[14] hat die Phosphorsäure durch Fällung mit Ammonmolybdat aus salpetersaurer Lösung bei Gegenwart von Ammonnitrat bestimmt. Er trocknet den Niederschlag bei 160 bis 170°. H. Lieb[15] hat ebenfalls die Brauchbarkeit der direkten Wägung des Ammon-Phosphormolybdatniederschlages, insbesondere nach der schon durch v. Lorenz[16] bekannten „Methode der Aethertrocknung" erkannt und weist auf das besonders günstige Verhältnis hin, daß Niederschläge zur Wägung kommen, die das 68fache Gewicht des darin enthaltenen Phosphors haben. Reagenzienkonzentration ist genauest einzuhalten, und gibt H. Lieb den Phosphorfaktor (empirisch ermittelt) mit 0,014524 an. Natürlich muß bei Anwesenheit von Arsen dieses durch Destillation aus stark salzsäurehälliger Lösung mit Hydrazinsulfat und Kaliumbromid vor der Fällung der Phosphorsäure entfernt werden. — Die Bestimmung als Magnesiumpyrophosphat bietet bei Einhalten genauer Fällungsbedingungen keine Schwierigkeiten[17], doch finden J. Feigl und H. Kleinmann[18], daß bei größerer Verdünnung, gleichgültig, ob in der Hitze oder Kälte gefällt, ob nach längerem oder

---

[11] A. Meixner u. F. Kröcker, Mikrochemie V, 129.

[12] Loc. cit.

[13] P. Fleury u. Z. Sutu, C. r. soc. de biologie 95, 976.

[13a] M. Machelboef u. G. Zwilling, Bull. Soc. Chim. Biol. 9, 697.

[14] J. Donan, Arbeitsmethoden der Mikrochemie, Verlag Franckh, Stuttgart, 57.

[15] Loc. cit.

[16] v. Lorenz, Ztschr. analyt. Chemie 51, 161.

[17] F. Emich, Lehrbuch der Mikrochemie, Verlag Bergmann, München, 2. Aufl., 183.

[18] J. Feigl u. H. Kleinmann, Biochem. Ztschr. 99, 191.

kürzerem Absitzen, keine vollständige Fällung erzielt wird. H. St. Raper[19] scheiden in der üblichen Weise als Ammonphosphormolybdat ab, lösen dieses und fällen mit Bleiazetat als Bleimolybdat und wägen dieses; J. Feigl und H. Kleinmann[20] erhalten jedoch nach diesem Verfahren um 2% zu hohe Werte. — G. Embden[21] benützt zur Fällung der Phosphorsäure ein Strychnin-Molybdänreagens, welches nach einer bestimmten Vorschrift hergestellt wird, und wägt nach dem Trocknen bei 110° die ausgefällte Phosphormolybdänsäure-Strychninverbindung. Kalzium- und Magnesiumsalze wirken störend.

B. Maßanalytisch. Da für Serienanalysen die Auswägung des gefällten Ammoniumphosphormolybdates zu langwierig ist, schlagen L. Dienes[22], R. Kuhn[23], H. v. Euler und Svanberg[24], P. Iversen[25], M. Sörensen[26], C. P. Stewart und W. Archibald[27] J. H. Gaddum[28], K. Samson[29] vor, diesen Niederschlag in einer bekannten überschüssigen Menge von n/2 bis n/50 Natron- oder Kalilauge zu lösen und deren Ueberschuß durch Rücktitration mit der entsprechenden Säure unter Anwendung der verschiedensten Indikatoren, wie Phenolphthalein, Thymolphthalein, Phenolrot, zu bestimmen. Die Werte fallen befriedigend aus. Der Phosphormolybdänkomplex soll womöglich bei Ausschluß von CO_2 in der Natronlauge gelöst werden und muß das gebildete NH_3 durch Kochen verjagt sein. Sollte gleichzeitig Arsen vorhanden sein, muß dies vor der Fällung in bekannter Weise entfernt werden. Knut Samson[29] gibt eine titrimetrische Methode zur Bestimmung des NH_4MgPO_4 in 10%iger HNO_3-Lösung an. O. Svanberg, Sjöberg und Zimmerlund[30] bestimmen den Stickstoffgehalt des gefällten Ammoniumphosphatniederschlages nach der Mikro-Kjeldahlmethode, doch findet W. Grote[31] dabei konstant zu hohe Werte und gibt deshalb einen empirischen Faktor an, für 1 ccm n/70 HCl = 0,00021 g

[19] H. St. Raper, Biochemical Journal 8, 649.
[20] J. Feigl u. H. Kleinmann, Biochemische Ztschr. 99, 45.
[21] G. Embden, Ztschr. physiol. Chemie 113, 138.
[22] L. Dienes, Biochem. Ztschr. 95, 131.
[23] R. Kuhn, Ztschr. f. physiol. Chemie 129, 64.
[24] Loc. cit.
[25] Loc. cit.
[26] M. Sörensen, C. r. d. Lab. Carlsberg 15, 1.
[27] C. P. Stewart u. W. Archibald, Biochem. Journal 19, 484.
[28] J. H. Gaddum, Biochem. Journal 20, 1204.
[29] K. Samson, Biochem. Ztschr. 164, 288.
[30] O. Svanberg, Sjöberg u. Zimmerlund, Arkiv för Kemi, Min. och Geol. 8, 1.
[31] W. Grote, loc. cit.

$P_2O_5 = 0{,}000091$ g P. — J. Feigl und H. Kleinmann[32] finden für Mengen bis 10 mg P_2O_5 die maßanalytische Bestimmung des Orthophosphations als Uranylphosphat sehr geeignet, jedoch die titrimetrische Bestimmung als Silberphosphat nach Liebermann[33] wenig befriedigend. Dagegen erhält R. Le Guyon[33a] gute Werte durch Ueberführen des PO_4''' in das Magnesiumsalz, dieses dann in einer Sodalösung eben aufnehmen unter Benützung von Phenolphthalein als Indikator, dann mit n/50 oder n/100 Silbernitratlösung fällen als Silberphosphat und den Ueberschuß des Silberions mit Chlorion titrieren. L. Kürthy und H. Müller titrieren das Orthophosphation mit n/10 $Bi(NO_3)_3$-Lösung unter Zugabe eines Tropfens 5%iger KJ-Lösung, der geringste Ueberschuß an Wismutnitratlösung gibt sich an einer bleibenden Gelbfärbung, durch die Bildung des Jodowismutkomplexes, kund. — K. Myrbäck[34] titriert die Phosphormolybdän-Strychninverbindung unter Anwendung von Phenolphthalein als Indikator nach dem Lösen mit Lauge von bekanntem Gehalt. Versetzen mit 2 ccm titrierter Salzsäure im Ueberschuß, Wegkochen der Kohlensäure und Fertigtitrieren mit der obigen Natronlauge. Es werden jedoch hiebei weniger Aequivalente zur Neutralisation verbraucht, als der Theorie entspricht, daher ist ein empirischer Faktor notwendig. — Die molybdomanganimetrische Methode zur Bestimmung des Ammonium-Phosphormolybdates empfiehlt A. Vila[35].

C. Kolorimetrische und nephelometrische Methoden. Derartige Methoden sind schon lange bekannt, insbesondere um in Eisensorten den Phosphorgehalt zu bestimmen. Namias[36] verwendet die blaue Färbung der Lösung, welche durch Behandlung des Phosphormolybdates mit Natriumhyposulfit oder Sulfit entsteht. Durch Reduktion mit Stannochlorid erhalten schon Osmond[37] sowie Benazet[38] blaue Färbungen, welche neuerdings wieder zu kolorimetrischen Zwecken ausgewertet werden. G. Misson[39] benützt die Eigenschaft von Phosphationen, in salpetersaurer Lösung bei Gegenwart von Vanadiumsalzen gelbe bis orange Färbungen zu geben. J. Feigl und H. Kleinmann[40]

---

[32] J. Feigl u. H. Kleinmann, Biochem. Ztschr. 99, 19.
[33] Liebermann, Biochem. Ztschr. 18, 44.
[33a] R. Le Guyon, Bull. Soc. Chim. biol. 9, 59.
[34] K. Myrbäck, Ztschr. physiol. Chem. 148, 197.
[35] A. Vila, C. r. 177, 1219.
[36] Namias, Stahl und Eisen 10, 1060.
[37] Osmond, Bull. Soc. chem. 47, 745.
[38] Benazet, Bull. Soc. chem. 11, 1087.
[39] G. Misson, Chem. Ztg. 32, 633.
[40] J. Feigl u. H. Kleinmann, Biochem. Ztschr. 99, 45.

ermitteln den Stickstoffgehalt des in üblicher Weise gefällten Ammon-Phosphormolybdates nach Waschen des Niederschlages mit 50%igem Alkohol (da der Niederschlag in reinem Wasser etwas löslich) durch darauffolgenden Kjeldahlaufschluß und Ueberdestillieren des Ammoniaks, dieses mit Hilfe von Neßlerschem Reagens, kolorimetrisch. — Das gefällte Magnesiumammonphosphat lösen Mc. Kim Mariott und Haeßler[41] in n/100 Salzsäure und bestimmen deren entfärbende Wirkung auf Ferrirhodanid kolorimetrisch. Akira Sato[42] löst das gefällte Uranylphosphat in Säure und bestimmt den durch Zusatz von Ferrozyanid entstehenden Farblon. J. Feigl und H. Kleinmann[43] bezeichnen dieses Verfahren als gut brauchbar, doch zu umständlich, da es nur mit großem Zeitaufwand durchzuführen ist. F. F. Tisdall[44] verwendet zu dieser Bestimmung statt des Ammonium-Phosphormolybdates die gefällte Molybdän-Strychninverbindung. Auch R. Essinger und P. György[45] teilen diesbezüglich ihre Erfahrungen mit. Groß ist die Zahl der Methoden und deren Modifikalionen, welche auf einer Reduktion der Molybdänsäure des gelben Ammon-Phosphormolybdates beziehungsweise der Molybdän-Strychninverbindung und der dadurch bedingten Blaufärbung beruhen.

J. Feigl und H. Kleinmann[46] sowie E. Riegler[47] halten die Verwendung von Hydrazin geeigneter als das von A. E. Taylor und C. W. Miller[48], Y. Terada[49], L. Spiegel und Maaß[50] in Verwendung genommene Phenylhydrazin beziehungsweise deren Salze. C. V. Bordeiann[50a] erhält die Blaufärbung der Phosphormolybdansäure durch Zusatz von Glyzin (1 g Glyzin lösen in Salpetersäure 1,12 auf 10 ccm Wasser verdünnen). G. Denigès[51] verwendet, wie schon Osmond[52], Benazet[53] zur Bestimmung des Phosphors im

[41] Mc. Kim. Mariott u. Haeßler, Journ. Biol. Chem. 32, 241.
[42] Akira Sato, Journ. Biol. Chem. 35, 473.
[43] J. Feigl u. H. Kleinmann, loc. cit.
[44] F. F. Tisdall, Journ. Biol. Chem. 50, 329.
[45] R. Essinger u. P. György, Bioch. Ztschr. 149, 339.
[46] J. Feigl u. H. Kleinmann, loc. cit.
[47] E. Riegler, Bull. de l'Akad. Roumaine 2, 272.
[48] A. E. Taylor u. C. W. Miller, Journ. Biol. Chem. 18, 215.
[49] Y. Terada, Bioch. Ztschr. 145, 426.
[50] L. Spiegel u. Maaß, Ber. 36, 512.
[50a] C. V. Bordeiann, Ann. scient. Univ. Jassy 14, 353.
[51] G. Denigès, C. r. soc. de biologie 84, 875; C. r. 171, 802.
[52] Osmond, Bull. Soc. chem. 47, 745.
[53] Benazet, Bull. Soc. chem. 11, 1087.

Stahl Stannochlorid zur Reduktion, und zwar 8 bis 10 Tropfen Schwefelsäuremolybdatreagens, 1 bis 2 Tropfen einer 1%igen Stannochloridlösung und erhält intensive Blaufärbung. Eine gründliche Untersuchung dieses Verfahrens hat M. v. Wrangel[53a] vorgenommen; er gibt folgende Arbeitsvorschrift an: 90 ccm Phosphatlösung (0,01 bis 0,04 mg P_2O_5) werden mit 1,5 ccm Molybdänlösung (konzentrierte H_2SO_4 + 10%ige Ammonmolybdatlösung 1 : 1) und 0,75 ccm frisch bereiteter 1%iger Stannochloridlösung versetzt, auf 100 ccm aufgefüllt und gut durchgeschüttelt. In 5 Minuten ist das Maximum der Blaufärbung erreicht. Als Vergleichslösung dient eine Lösung, welche in 10 ccm = 0,02 mg P_2O_5 enthält, gearbeitet wird im Tauchkolorimeter von Lautenschläger. Denigès Angaben bezüglich der Verstärkung der Blaufärbung durch die Anwesenheit von Kieselsäure und Arsen sowie deren Schwächung beziehungsweise Verschwinden durch Fluor werden bestätigt. Ist bei der Reduktion Rhodanid zugegen, tritt die „Molybdänrot"-Färbung auf, welche nach J. Feigl und H. Kleinmann[54] nicht brauchbar für kolorimetrische Bestimmungen ist. — R. D. Bell und Ed. A. Doisy[55] fanden, daß Hydroxylamin, Tannin und viele Phenole die Eigenschaft besitzen, mit Molybdänsäure nicht, wohl aber Phosphormolybdänsäure, Färbungen zu erzeugen. Sie halten Hydrochinon für die geeignetste Substanz hiezu. Die entstehende Blaufärbung wird durch Alkali verstärkt, und da das Chinon eine grünliche Färbung bedingt, muß diese durch Sulfitzusatz beseitigt werden. Als Vergleichslösung wird K_2HPO_4 benützt, unter Anwendung gleicher Volumina. Als Reagenzlösungen werden verwendet: 1. 50 g reines phosphatfreies Ammonmolybdat in 1 l nH_2SO_4 ohne Erwärmen gelöst. 2. In 1 l Wasser + 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure werden 20 g Hydrochinon gelöst. 3. Die alkalische Sulfitlösung (75 g Natriumsulfit in 500 ccm Wasser gelöst, dazu 2 l 20%iger Sodalösung). Diese Methode ist viel modifiziert worden, über Modifikationen und Kritik siehe bei A. P. Briggs[56], Randles und Knudsohn[57], St. R. Benedict und R. C. Theis[58], M. Martland und R. Robinson[59], K. Cluskey[60], J. C. Whitehorn[61], R. F. Stan-

[53a] M. v. Wrangel, Landw. Jahrb. 63, 669.
[54] J. Feigl u. H. Kleinmann, loc. cit.
[55] R. D. Bell u. Ed. A. Doisy, Journ. biol. chem. 44, 55.
[56] A. P. Briggs, Journ. Biol. Chem. 53, 13.
[57] Randles u. Knudsohn, Journ. Biol. Chem. 55, 53.
[58] St. R. Benedict u. R. C. Theis, Journ. Biol. Chem. 61, 63.
[59] M. Martland u. R. Robinson, Bioch. Journ. 18, 765.
[60] K. Cluskey, Chem. Zentralbl. 1925, II, 1077.
[61] J. C. Whitehorn, Journ. Biol. Chem. 62, 133.

'ford und A. H. M. Wheatley[62], R. E. Havard und G. Reay[63], G. E. Youngburg, G. W. Pucher und H. A. Day[64]. Statt des Hydrochinons empfehlen C. H. Fiske und Y. Subbarow[65] als Reduktionsmittel die 1-2-4-Aminonaphtholsulfosäure. W. R. Gelston Atkins und E. G. Wilson[66] stellen vergleichende Versuche an über die Genauigkeit der kolorimetrischen Phosphorbestimmung nach den Methoden von Denigès, Bell und Doisy, Pouget und Chouchak, P. Fleury und Zacharie Sutu[67] bevorzugen die Methode Doisy-Bell.

Nephelometrisch wurde schon lange[68] die Trübung, oder für sehr kleine Mengen die gelbe Farbe, die das Ammonmolybdat in einer Lösung von Phosphationen hervorruft, bestimmt. Neuerdings wurden diese Verfahren wieder aufgenommen von H. Serger[69]; P. Medinger[70] verwendet ebenso wie Ph. A. Kober und Egerer[71], W. R. Bloor[72] die Molybdat-Strychninverbindung bei Anwendung eines Nephelometers.

Bei Anwendung eines haltbaren Strychninreagens (30,4 g ammonsalzfreies MoO_3 und 9,6 g entwässerte Soda werden bis zur Lösung in 200 ccm Wasser gekocht, nach dem Filtrieren warm mit 160 ccm Salzsäure 1,19 versetzt und erkalten gelassen, schließlich mit 80 ccm Wasser, in dem 1,6 g Strychninsulfat gelöst wurde, versetzt und auf 1 l aufgefüllt) haben J. Feigl und H. Kleinmann[73] ganz ausgezeichnete Resultate erhalten.

D. Sedimetrisch. Dieses für die Bestimmung von Phosphor in Stahl bereits im Jahre 1860 von Eggertz[74] vorgeschlagene und mit Erfolg benützte Verfahren, um kleine Mengen Ammonphosphormolybdat zu bestimmen, wurde verschiedentlich ausgebaut, so von

---

[62] R. G. Stanford u. A. H. M. Wheatley, Bioch. Journ. 19, 697.

[63] R. E. Havard u. G. A. Reay, Bioch. Journ. 19, 882.

[64] G. E. Youngburg, G. W. Pucher u. H. A. Day, Journ. Biol. Chem. 62, 31.

[65] C. H. Fiske u. Y. Subbarow, Journ. Biol. Chem. 66, 375.

[66] W. R. Gelston Atkins u. E. G. Wilson, Bioch. Journ. 20, 1223.

[67] P. Fleury u. Zacharie Sutu, C. r. soc. de biologie 95, 976.

[68] Siehe De Koninck-Meinecke, Lehrbuch der chem. Analyse, Verlag Mückenberger, Berlin.

[69] H. Serger, Chem.-Ztg. 39, 613.

[70] P. Medinger, Chem.-Ztg. 39, 781.

[71] Ph. A. Kober u. Egerer, Journ. American. Chem. Soc. 37, 2373.

[72] W. R. Bloor, Journ. Biolog. Chem. 36, 33.

[73] J. Feigl u. H. Kleinmann, Biochem. Ztschr. 99, 150.

[74] Eggertz, Journ. prakt. Chemie 79, 496.

Wedding[75], Ukena[76], Bormann[77], v. Reis[78], Götz[79], Reinhardt[80], v. Jüptner[81], Hamburger[82] hat dann später dieses Verfahren als eine neue Methode unter Angabe eines Apparates, den „Chonohämatokrit", beschrieben. Der überaus feinkörnige gelbe Niederschlag des Ammonium-Phosphormolybdates eignet sich besonders gut für diese Methodik, wie J. Feigl und H. Kleinmann[83], H. Copaux[84], P. Fleury und Z. Sutu[85], J. Daric[86], A. Geake[87], O. Arrhenius und H. Riehm[88] zeigten.

C. Die Mikromethoden der Phosphorbestimmung in biologischem Material.

Von H. K. Barrenscheen.

I. Einleitung. Die Bedeutung der Phosphorbestimmung für die Biochemie.

Die Entdeckung der Phosphorylierung bei der Gärung durch Iwanoff, Harden und Young hat die Frage nach der Rolle des Phosphations in den Mittelpunkt der Betrachtung des intermediären Kohlehydratstoffwechsels der Hefe gerückt. Die Arbeiten der Gärungsphysiologen haben ihrerseits wieder befruchtend auf die Tierphysiologie gewirkt. Voraussetzung für ein erfolgreiches Arbeiten auf diesem Gebiet war — neben der nicht zu unterschätzenden präparativ-chemischen Erforschung — die Möglichkeit, das Phosphation in entsprechend kleinen Mengen quantitativ bestimmen zu können. Hier hat die Entwicklung der Mikrochemie der Physiologie unschätzbare Dienste geleistet. Der Hinweis, daß heute allgemein die Veresterung mit Phosphorsäure als erster Schritt sowohl beim Aufbau wie auch beim Abbau der Kohlehydrate im pflanzlichen und tierischen Organismus betrachtet wird,

[75] Wedding, Stahl und Eisen 7, 118.
[76] Ukena, Stahl und Eisen 7, 407.
[77] Bormann, Ztschr. angew. Chem. 1889, 638.
[78] v. Reis, Stahl und Eisen 9, 1025 u. 10, 1059.
[79] Götz, Ztschr. angew. Chemie 1889, 1638.
[80] Reinhardt, Chem. Ztg. 15, 410.
[81] v. Jüptner, Ost. Ztschr. f. Berg- und Hüttenwesen 43, 203.
[82] Hamburger, Ztschr. analyt. Chem. 1917, 95.
[83] J. Feigl u. Kleinmann, Biochem. Ztschr. 99, 95.
[84] H. Copaux, C. r. 173, 656.
[85] P. Fleury u. Z. Sutu, Journ. pharm. chim. 5, 56.
[86] J. Daric, Bull. Soc. Chim. de France 35, 409.
[87] A. Geake, Journ. Textile Inst. 15, T. 81.
[88] O. Arrhenius u. H. Riehm, Medd. Kgl. Vetenskapsakad Nobelinst. 6, 1.

mag hier genügen, um die Bedeutung, welche die messende Verfolgung des Phosphations für den intermediären Kohlehydratstoffwechsel besitzt, kurz zu umreißen. Daß diese Richtung die Forschung zu neuen, von dem ursprünglichen Gebiet scheinbar abseits liegenden Ergebnissen geführt hat, kann in diesem Zusammenhang nur kurz gestreift werden. Es sei hier nur auf das Phosphagen von Eggleton verwiesen, das von Fiske und Subbarow als Kreatin-Phosphorsäure identifiziert wurde, als deren Analogen im Muskel der Wirbellosen die Arginin-Phosphorsäure von Meyerhof und Lohmann isoliert wurde. In diesem Zusammenhang wäre auch des von Lohmann in jüngster Zeit nachgewiesenen Pyrophosphats zu gedenken, das sich in allen Zellen, welche zum Kohlehydratumsatz befähigt sind, findet. So groß die Erfolge auch sind, welche auf diesem Gebiet der Physiologie erreicht wurden, so soll doch darauf hingewiesen werden, daß so manches Problem hier, neu erst entstanden, seiner Lösung noch harrt. Ganz abgesehen von der Pflanzenphysiologie, in der eine experimentelle Bearbeitung dieser Fragen kaum erst begonnen wurde (vgl. Barrenscheen und Albers), sei hier Greenwalds ursprünglich rein aus Gründen der Zweckmäßigkeit aufgestellte Einteilung der Phosphorsäure in einen „säurelöslichen" und „säureunlöslichen" Anteil als Beispiel angeführt. Die in weiterer Konsequenz dieser Einteilung durchgeführte präparative Aufarbeitung des organisch-säurelöslichen Phosphors führte schließlich zur Auffindung der Glyzerinsäure-Diphosphorsäure, mit deren Rolle bei der Glykolyse des Blutes sich Jost beschäftigt hat. Hier liegen für die Physiologie noch eine Reihe von Problemen, die durch präparative und quantitative Arbeit zu lösen sind. Es wäre jedoch verfehlt einseitig, wollte man die Bedeutung der Phosphorsäure für die Biologie nur auf dem Gebiete des Kohlehydratstoffwechsels suchen. Die Tatsache, daß die Nukleinsäuren und ein großer Teil der „Lipoide", die Lecithine und Phosphatide, Ester der Phosphorsäure sind, daß der für die Ernährung des neugeborenen Säugetierorganismus wesentliche Eiweißkörper, das Kaseinogen, gleichfalls esterartig gebundene Phosphorsäure enthält, weisen der experimentell eingestellten Forschungsrichtung noch ein weites Feld, das bisher kaum noch betreten wurde. Wegweiser auf diesem Gebiete könnten die fast in allen Geweben und Organen nachgewiesenen Phosphorsäure abspaltenden und wieder in organische Bindung überführenden Fermente, die Phosphatasen und Phosphatesen sein. Welche Fortschritte dank der Entwicklung der Technik hier noch zu erwarten sind, zeigt das Gebiet der Physiologie und Pathologie des Knochenaufbaues. Die Frage der Rachitis und der Tetanie, um nur einen

kleinen Ausschnitt herauszugreifen, lassen sich heute ohne die Beziehungen zum Phosphatstoffwechsel nicht mehr denken. Daß schließlich auch die Möglichkeit der Bestimmung des Magnesiums in kleinsten Mengen biologischen Materials dem Ausbau der Phosphorsäurebestimmung zu danken ist, soll hier nur nebenbei bemerkt werden.

Ich habe mit diesen flüchtigen Strichen versucht, kurz die Bedeutung zu skizzieren, welche die Bestimmung der Phosphorsäure für die Biochemie besitzt. Bevor auf die einzelnen Methoden eingegangen wird, soll nur eine Frage kurz noch berührt werden, die einer einheitlichen Regelung bedarf. Es ist das die Berechnungsweise der quantitativen Analysen, die heute durchwegs nach verschiedenen Gesichtspunkten durchgeführt wird. Entsprechend der traditionellen Berechnungsweise werden vielfach die Resultate als P_2O_5 angegeben. Von anderer Seite findet eine Berechnung als H_3PO_4 beziehungsweise PO_4 statt, während vorwiegend die englisch-amerikanische Literatur ihre Angaben als P macht. Eine solche verschiedene Berechnungsweise erschwert naturgemäß den Vergleich und die Beurteilung der einzelnen Methoden und Resultate und erfordert oft ein langwieriges Umrechnen. Es wäre dringend zu wünschen, wenn man sich hier auf eine einheitliche Ausdrucksweise der Ergebnisse einigen wollte. Da die Mehrzahl der kolorimetrischen Methoden, die heute, mit wenigen Ausnahmen, vorherrschend sind, auf der Berechnung als P basieren, wäre es meines Erachtens am besten, sich auf diese Art der Berechnung endgültig festzulegen.

II. Die einzelnen Methoden.

Der folgende kurze Ueberblick über die wichtigsten Methoden erhebt keineswegs Anspruch auf absolute Vollständigkeit. Bei der leider nur zu verbreiteten Vorliebe, gut ausgearbeitete Methoden durch geringfügige, oft nicht einmal zweckmäßige Modifikationen in „neue", „eigene" Methoden zu verwandeln, wäre Vollständigkeit meines Erachtens auch nicht erwünscht. Die Anordnung ist nach Art der Bestimmungsmethoden getroffen. In erster Linie ist die Bestimmung des anorganischen Phosphates berücksichtigt.

a) Gravimetrische Methoden.

Als Standardmethode hat hier nach wie vor die Methodik von Pregl-Lieb[1] zu gelten, auf die weiter einzugehen sich in diesem Zusammenhang erübrigt. Sie ist überall dort am Platze, wo die größtmögliche analytische Genauigkeit angestrebt wird. Näheres siehe auch

im letzten Abschnitt dieser Uebersicht. Für biologische Zwecke hat die Methode vielfach Anwendung gefunden. Was an „Modifikationen" vorliegt, betrifft die Vorbereitung des Materials (Enteiweißung, Veraschung usw.). Ihre einwandfreie Brauchbarkeit auch bei Bestimmungen bis auf Mengen von 0,03 mg P herunter hat Kuhn[2] erwiesen. Die Uebertragung der Methodik durch Holtz[3] auf kleinste Mengen von Material durch Einführung der „Ultrawage" dürfte dagegen kaum Aussicht auf eine allgemeinere Verbreitung haben. Ganz abgesehen von den Schwierigkeiten, welche die Behandlung eines so empfindlichen Instrumentes wie die Ultrawage mit sich bringt, muß doch die Frage aufgeworfen werden, ob die angestrebte Genauigkeit bei Verarbeitung biologischen Materials wirklich zu erreichen ist, und wenn ja, ob eine solche Genauigkeit für die Mehrzahl der biologischen Untersuchungen auch einen Sinn hat. Ich möchte speziell die letzte Frage unbedingt verneinen, ohne dabei aber die gelegentliche Verwendung solcher „Ultramethoden" für analytische Zwecke abzulehnen.

Neben der Pregl-Liebschen Methode hat sich von gravimetrischen Methoden nur noch die von Embden[4] ausgearbeitete Technik durchsetzen können, welche Phosphorsäuremengen, entsprechend 1 bis maximal 4 mg P_2O_5 zu bestimmen gestattet. Embden fällt die Phosphorsäure als komplexes Strychnin-Phosphormolybdat. Die Zusammensetzung des Niederschlages ist bei Anwendung des von Embden angegebenen Fällungsreagens, das für jede Bestimmung aus den entsprechenden Vorratslösungen frisch zu bereiten ist, eine konstante. Das Gewicht des Niederschlages entspricht recht genau dem 89,32fachen des vorhandenen P, beziehungsweise dem 39fachen an P_2O_5, so daß, analog der Pregl-Liebschen Bestimmung, die Wägung auf der Makrowage vollkommen ausreicht. Die Brauchbarkeit der Methodik für Mengen von 0,05 bis 0,2 mg P — bei Verwendung der Preglschen Filterröhrchen und der Mikrowage — ist von Myrbäck[5] erwiesen worden.

Von anderen gravimetrischen Methoden sei hier nur kurz die Methodik von Posternak[6] erwähnt, welcher den Ammonmolybdatniederschlag nach Lösen in Ammoniak durch Fällen mit 10% Bariumchlorid in das komplexe Bariumphosphormolybdat überführt und zur Wägung bringt. Die Methodik, welche Mengen von 0,05 bis 0,5 mg in reinen Phosphatlösungen, sonst Mengen bis maximal 5 mg zu bestimmen erlaubt, hat nur ganz vereinzelt Anwendung gefunden.

Die in der Makroanalyse bevorzugte Fällung als Magnesium-Ammoniumphosphat und nachfolgende Wägung als Magnesiumpyro-

phosphat hat in der biochemischen Mikromethodik bis jetzt kaum eine Verwendung gefunden. Sie wäre vielleicht dort in Erwägung zu ziehen, wo — zur Vermeidung der Abspaltung von Phosphorsäure aus organischer Bindung — die Fällung bei alkalischer Reaktion erwünscht ist.

b) Titrimetrische Methoden.

Die Notwendigkeit, Reihenuntersuchungen auszuführen, die sich bei biochemischen Fragestellungen nur zu oft ergibt, hat dazu geführt, nach Methoden Umschau zu halten, welche die immerhin zeitraubende Gewichtsanalyse umgehen lassen. Es war naheliegend, die von Neumann für Makrobestimmungen ausgearbeitete Titrationsmethode, die auf der Zerlegung des Ammoniummolybdatniederschlages mit überschüssiger n/2 NaOH und Rücktitration der unverbrauchten NaOH nach Verkochen des NH_3 beruht, auch auf mikrochemisches Gebiet zu übertragen. Die ersten diesbezüglichen Versuche rühren von L. Dienes[7] her, der schließlich mit n/25 HCl titrierte. Die Werte für sehr kleine P-Mengen fielen jedoch nach seiner Methodik durchwegs zu hoch aus. Exakte Zahlen erhielt P. Iversen[8], dem auch eine Kontrolle des Neumann-Gregersenschen Faktors zur Umrechnung der Makrobestimmung zu danken ist. Unter Zugrundelegung des für kleinste Mengen bestimmten Umrechnungsfaktors erhielt Iversen für den Bereich von 0,015 bis 0,121 mg P bei Verwendung von n/25 NaOH Werte, welche von den berechneten um $\pm$ 0,003 mg abweichen. Die Bestimmung ist noch bei Mengen von 0,3 bis 0,5 ccm Serum anwendbar. Der Methodik von Iversen analog ist die von v. Euler und Svanberg[9] angegebene, die bei Phosphormengen von 0,1 bis 0,5 mg mit einer Genauigkeit von rund 10% arbeitet. Günstigere Ergebnisse berichtet dagegen Kuhn[10], der den Ammonmolybdatniederschlag mit n/10 NaOH zerlegt und schließlich gegen Phenol- oder Thymolphthalein zurücktitriert. Die Methoden von Smith-Brown[11], Soerensen[12], Stewart und Archibald[13], Samson[14], Macheboeuf[15], Gaddum[16] gehen sämtliche auf das gleiche Prinzip zurück und unterscheiden sich nur in mehr oder weniger untergeordneten Details. Trotzdem theoretisch die Möglichkeiten für die Uebertragung der titrimetrischen Methodik Neumanns auf das Gebiet der Mikroanalyse sehr günstig liegen, haben sich doch die einzelnen Methoden über den Bereich der Laboratorien, in denen sie entstanden sind, nicht durchsetzen können. Der Grund hiefür liegt zum Teil darin, daß die titrimetrische Verarbeitung immerhin recht umständlich ist, das Auswaschen des Niederschlages ist auch bei Verwendung der Zentrifuge zeitraubend und langwierig.

Zum anderen Teil muß auch gegen einzelne Methoden der Vorwurf erhoben werden, daß sie nicht mit entsprechender Kritik ausgearbeitet wurden. Es sei hier speziell auf Iversens kritische Durcharbeitung der in Frage kommenden Fehlerquellen verwiesen. Was hier über das Schicksal jener Methoden gesagt wurde, die sich der ursprünglichen Neumannschen Technik anschließen, gilt auch für eine Reihe von Abänderungen, von denen keine weitere Verbreitung gefunden hat. Die von Myrbäck[17] ausgearbeitete Technik — Fällung nach Embden und nachfolgende Titration des Strychninmolybdatniederschlages nach Neumann — ergibt wohl brauchbare Ergebnisse, leidet aber an einer gewissen Umständlichkeit. Auch die Versuche, die Titration des Ammonmolybdatniederschlages zu umgehen und das NH_3 des Niederschlages durch Destillation nach Kjeldahl zu bestimmen, konnten sich nicht allgemeinere Anerkennung verschaffen. Von Svanberg, Sjöberg und Zimmerlund[18] wurde so die Bestimmung im Mikro-Kjeldahl nach Bang jodometrisch durchgeführt. Die Versuche, welche P-Mengen von 0,05 bis 1 mg bestimmen, ergaben jedoch, daß das berechnete Verhältnis von 1 P : 3 NH_3 nicht zutrifft, sondern stets größere NH_3-Mengen gefunden werden. Zu gleichen Ergebnissen kam auch W. Grote[19], der die Bestimmung nach Pregl ausführte. Durch entsprechende Korrektur sollen zwar richtige Werte erhalten werden. Die Unsicherheit, die derartigen Bestimmungen immerhin anhaftet, läßt es verstehen, daß diese sonst einfachen Methoden keine weitere Verbreitung gefunden haben.

c) Kolorimetrische Methoden.

Den Bedürfnissen der Biochemie nach einwandfrei und dabei rasch arbeitenden Methoden, welche Serienuntersuchungen ermöglichten, ist die Kolorimetrie gerecht worden und ihrem Ausbau sind in erster Linie die großen Fortschritte zu danken, welche die Physiologie in der letzten Zeit auf allen Gebieten des Phosphatstoffwechsels erzielt hat. Es ist leider noch immer Tatsache, daß die Kolorimetrie von vielen Seiten als Methodik zweiten Ranges angesehen wird, welche im Rahmen exakter Forschung neben der Gewichts- und Maßanalyse keinen Raum zu beanspruchen hat. Die Epitheta für „physiologische Zwecke brauchbar", „klinisch", tragen alle diesen Beigeschmack. Und doch ist nichts verfehlter, als solch ein abweisendes Urteil. Es soll hier mit Nachdruck betont werden, daß die exakte Kolorimetrie als analytische Methode bei biologischem Material der Gravimetrie und Maßanalyse vollkommen ebenbürtig ist. Die Empfindlichkeit der meisten Farbreaktionen ist eine derartige, daß sie ein Herabgehen auf wirkliche Mikromengen von

Material gestatten und die Bestimmung noch an absoluten Mengen ermöglichen, die vielfach um einige Zehnerpotenzen niedriger liegen als die, welche Gewichts- und Maßanalyse zu erfassen erlauben. Die Fehlerbreite ist dabei nicht größer als die, welche den Standardmethoden der Biochemie in der Makroanalyse zugebilligt wird — bei den gut ausgearbeiteten Methoden maximal $\pm 3\%$. Vielfach wird auch die Kolorimetrie als „subjektiv" abgelehnt. Der gleiche Vorwurf der Subjektivität trifft aber dann sämtliche optische Methoden, nicht zuletzt aber viele als objektiv gepriesene maßanalytische. Man denke daran, wie verschieden, namentlich vom Anfänger, ein „eben erkennbarer" Umschlag gewertet wird. Wie überall, ist auch zur Kolorimetrie Uebung erforderlich, und ein geschultes Auge vermag viel. Eine selbstverständliche Voraussetzung ist freilich, neben exaktem und peinlich sauberem Arbeiten ein einwandfreies Kolorimeter. An solchen ist heute kein Mangel mehr. Die fortschreitende Technik hat hier Apparate geschaffen, welche ein exaktes Arbeiten auch noch mit kleinsten Flüssigkeitsmengen ermöglichen und Instrumente wie das neue Leitzsche Universalkolorimeter genügen auch den extremsten Ansprüchen.

Die Farbreaktionen, auf denen die kolorimetrischen Phosphorsäurebestimmungen aufgebaut sind, haben verschiedene Umsetzungen zur Grundlage. Wohl am verbreitetsten sind die Methoden, welche die Reduktion des Phosphormolybdänkomplexes zu blaugefärbtem Molybdänoxyd benutzen. Das Verdienst, die Reaktion erstmals zur kolorimetrischen Bestimmung kleinster P-Mengen in biologischem Material herangezogen zu haben, kommt Taylor und Miller[20] zu, die bereits 1914, einer Anregung Mac Callums folgend, eine Methode angaben, welche nach ihren eigenen Angaben nur eine approximative Bestimmung ermöglichte (Fehlerbreite durchschnittlich 10% über dem theoretischen Wert). Die Phosphorsäure wurde von ihnen nach Veraschung als Ammonmolybdatkomplex gefällt, der Niederschlag nach entsprechendem Auswaschen gelöst und in der Lösung die Reduktion mit 5% Phenylhydrazin durchgeführt. Der Zeiten Ungunst hat einen weiteren Ausbau dieser Methodik auf etliche Jahre hinausgeschoben. Erst 1920 wurde die von Taylor und Miller gegebene Anregung von mehreren Seiten wieder aufgegriffen. In erster Linie waren es R. P. Bell und E. A. Doisy[21], welche mit Erfolg an die Frage herantraten und denen so die erste brauchbare direkte kolorimetrische Methodik der Phosphorbestimmung auf Grund der „Coeruleo-Molybdatreaktion" zu danken ist. Ein wesentlicher Fortschritt gegenüber der ursprünglichen Technik von Taylor und Miller bestand darin, daß die umständliche Fällung

und das Auswaschen des Phosphatniederschlages umgangen wurde. Wie, fast gleichzeitig und unabhängig, auch von Hsein Wu[22] und Denigès[23] gezeigt wurde, ist unter bestimmten Bedingungen — Verwendung von Sulfat-Molybdatreagenz — die Reduktion des Phosphormolybdänkomplexes bei gleichzeitig vorhandenem Ueberschuß von Molybdänsäure bis zu einem gewissen Grade spezifisch. Die entwickelte Farbintensität ist dabei der Menge vorhandenen Phosphats direkt proportional. Von Bell und Doisy wurde als Reduktionsmittel Hydrochinon verwendet, die volle Farbentwicklung wird, nach erfolgter Umsetzung in saurem Milieu, bei alkalischer Reaktion durch eine Karbonatsulfitlösung erreicht. Die mit der Methode erhaltenen Resultate zeigen — auch nach eigener ausgedehnter Erfahrung — recht gute Uebereinstimmung mit den auf gravimetrischem Wege gefundenen Werten; die maximale Abweichung, die wir erhielten, betrug $\pm 3\%$. Ein wesentlicher Nachteil ist jedoch, daß schon innerhalb recht enger Grenzen die Farbtöne nicht mehr exakt vergleichbar sind, so daß man genötigt ist, mit einer größeren Anzahl von Standardlösungen zu arbeiten. Ein weiterer Nachteil ist das rasche Abblassen der Färbung, das bereits kurze Zeit nach den 30 Minuten, die man zur Entwicklung der vollen Farbintensität warten muß, einsetzt und so namentlich Serienbestimmungen unmöglich macht. Auf Störungen bei zu großem Oxalat- und Zitratgehalt des Blutes ist von Denis[24] hingewiesen worden. Es entstehen Trübungen, welche die Bestimmung illusorisch machen. Den Nachteilen, welche so das Arbeiten in alkalischem Milieu mit sich bringt, stehen allerdings auch — für bestimmte Zwecke — Vorteile gegenüber, auf die später im Zusammenhang eingegangen werden soll. Einen Fortschritt in vieler Hinsicht bedeutet die Abänderung der Bell-Doisyschen Methode durch Briggs[25], der unter Beibehaltung der übrigen Vorschriften die Farbentwicklung in saurem Milieu durchführte und so haltbare Färbungen erzielte. Die Methodik, die gleichzeitig ein Herabgehen mit den in Arbeit genommenen Mengen von Material gestattet, hat denn auch ausgedehnteste Anwendung in der Klinik und Biochemie gefunden; Havard und Reay[26] konnten so auf 0,5 ccm Blut heruntergehen, Warkany[37] ist dann, durch entsprechende Reduktion der Reagentienmengen, auf Mikromengen von nur 0,2 ccm Blut gekommen. Aber auch der Briggsschen Methode haften noch Mängel an, welche eine exakte Bestimmung vielfach illusorisch machen und die nicht unbesprochen bleiben können. Ebenso wie bei der Methodik von Bell und Doisy zeigt sich, daß die Farbgleichheit nur innerhalb recht enger Konzentrationsgrenzen zu erzielen ist, so daß für exakte Werte eine

größere Anzahl von Standardlösungen erforderlich ist. Weiter macht sich die Abhängigkeit der Farbintensität und des Farbtones vom Grade der Azidität und vom Salzgehalt recht unangenehm bemerkbar. Das trifft namentlich dort zu, wo es sich um Verarbeitung von nach Neumann veraschten Lösungen handelt. Von Briggs[28] selbst rühren Versuche her, diesem Mißstand abzuhelfen. Eine ganze Anzahl von Arbeiten beschäftigt sich denn auch mit diesen Mängeln und Störungen der Briggsschen Methode, speziell mit dem Einfluß der Säuremengen. Es sei hier auf die Arbeiten von Rimington[29], Martland und Robison[30], Kay und Robison[31], Stanford und Wheatley[32], Roe[33] und Benett[34] verwiesen. Keiner der vielen Abänderungsvorschläge hat jedoch zu einer radikalen Beseitigung der Mängel geführt, auch die von Benedict und Theis[35] vorgeschlagene Modifikation — Entwicklung der maximalen Farbtiefe durch Erhitzen im Wasserbad — hat hier nicht Abhilfe geschaffen. Eine ausführliche Kritik aller Fehlerquellen findet sich in der ausgezeichneten Arbeit von C. H. Fiske und Y. Subbarow[36], denen gleichzeitig auch eine neue Methodik zu danken ist, die absolut verläßlich und einwandfrei arbeitet. Das Prinzip der Methode ist das gleiche geblieben wie bei Briggs bzw. Bell-Doisy: direkte Reduktion des Phosphormolybdänkomplexes in schwefelsaurer Lösung. Als Reduktionsmittel verwenden jedoch Fiske und Subbarow nicht mehr Hydrochinon, das in großem Ueberschuß und bei längerer Einwirkung auch Molybdänsäure reduziert, sondern die 1-Amino-2-Naphthol-4-Sulfosäure, welche das Hydrochinon an Geschwindigkeit der Reduktion weit überholt. Die Vorteile der Methode sind gegenüber der Briggsschen als wesentlich zu bezeichnen. Durch die Einführung von Molybdatlösungen mit abgestuftem Säuregehalt — 5n — 3n H_2SO_4, säurefreie Lösung (für Veraschungsgemische) — wird für die einzelnen Anwendungsmöglichkeiten eine gleichmäßige Azidität gewährleistet. Durch Einführung der 1-, 2-, 4-Aminonaphtholsulfosäure wird eine Farbintensität erreicht, welche die bei Briggs erzielte bei weitem übertrifft. Dabei bleibt der Farbton innerhalb recht weiter Konzentrationsgrenzen unverändert — nach Fiske und Subbarow lassen sich, bei Verwendung von 0,4 mg% P als Standard, Phosphormengen zwischen 0,2 bis 1,6% mg einwandfrei kolorimetrieren. Eigene Erfahrung hat diese Angaben durchaus bestätigt; es war uns möglich, unter Einhaltung bestimmter Bedingungen, noch Mengen unter 0,01 mg P mit der Methode einwandfrei zu fassen. Neben dem intensiven und gleichmäßigen, haltbaren Farbton zeigt die Methodik auch eine weitgehende Unabhängigkeit vom Salzgehalt der Lösungen; Störungen, die sich bei Briggs bald in zu hohen, bald in zu niedrigen Werten ausdrückten, fallen hier gänzlich weg.

Die Gefahr, daß überschüssiges Molybdat auch reduziert wird, ist bei der geringen Konzentration des Reduktionsmittels — die Lösung ist 0,25% — nicht vorhanden. Eine Erschwerung bedeutet vielleicht die Beschaffung der Aminonaphtholsulfosäure. Die Reindarstellung nach Folin[37] bereitet wohl keine Schwierigkeiten. Das technische Produkt ist im Handel erhältlich (Eastman Kodak), in Deutschland liefern die Agfa-Werke die Säure unter dem Namen „Eikonogen", doch muß das Produkt durch Lösen in Bisulfit-Sulfit, Fällen mit Salzsäure und gründliches Waschen mit Alkohol gereinigt werden. In jüngster Zeit ist von Tschopp[38] aus dem Spiroschen Institut in Basel der Vorschlag gemacht worden, an Stelle des Eikonogens das in reiner Form erhältliche Rodinal-Agfa zu verwenden, das den Vorteil hat, eine farblose Lösung zu liefern. Eigene Erfahrungen fehlen mir über diese Abänderung. Die hervorragende Brauchbarkeit der Methode an Hand von Kontrollen mit der gravimetrischen Bestimmung nach Embden gezeigt zu haben, ist das Verdienst von Jendrassik und Lohmann[39], welche gleichzeitig, einer schon von Fiske angedeuteten Tatsache folgend, die Methodik dadurch verfeinerten, daß sie die Farbentwicklung durch kurzes Erwärmen auf 37° beschleunigen.

Fast gleichzeitig mit Bell und Doisy ist auch von Denigès[40] eine quantitative, direkte kolorimetrische Phosphorbestimmung veröffentlicht worden, welche, auf dem gleichen Prinzip aufgebaut, die Reduktion des Phosphormolybdänkomplexes durch Stannochlorid in saurer Lösung bewerkstelligt. Diese Coerulco-Molybdatmethode von Denigès hat in Frankreich allgemeine Verbreitung gefunden, während sie in Deutschland und den angelsächsischen Ländern sich gegen die Briggssche Methodik nicht durchzusetzen vermochte. Für agrikulturchemische Untersuchungen hat sich die Methode allgemein bewährt (siehe die Arbeiten von Wrangell[41], Scharrer[42], Gilbert und Smith[43] sowie Green[44]). Eine gewisse Umständlichkeit bedeutet es freilich, daß die Stannochloridlösung jedesmal ad hoc frisch bereitet werden muß, während die organischen Reduktionsmittel, wie sie die Methoden von Bell und Doisy, Briggs, Fiske und Subbarow verwenden, doch beschränkte Zeit haltbar sind.

Während die bisher genannten Methoden die Reduktion des Phosphormolybdänkomplexes zu blauem Molybdänoxyd als Grundlage hatten und in ihrer Entwicklung so ausgebaut wurden, daß eine vorhergehende Fällung der Phosphorsäure überflüssig wurde, sind auch Verfahren ausgearbeitet worden, welche die äußerst empfindliche Fällung der Phosphorsäure mittels Strychnin-Molybdänsäure (Reagens von Pouget und

Chouchak) zur kolorimetrischen Umsetzung benützen. Auf die hervorragende Brauchbarkeit gewisser Reduktionsprodukte des Strychnin-Phosphormolybdänkomplexes für kolorimetrische Zwecke hat bereits Kleinmann[45] in seiner umfassenden Kritik der damaligen Methoden hingewiesen. Von Tisdall[46] ist dann eine Methodik angegeben worden, welche die Reduktion des Strychnin-Phosphormolybdänkomplexes mit Ferrozyankalium zu einem grün gefärbten Molybdänoxyd kolorimetrisch auswertet. Tisdall fällt das Phosphat mit einem Strychnin-Molybdatreagens von gleicher Zusammensetzung wie das von Embden benützte Reagens, nur daß Molybdat- und Strychninlösung vereinigt werden. Der gewaschene Niederschlag von Strychnin-Phosphormolybdänsäure wird dann nach Lösen in 1%iger Natronlauge durch Ferrozyanid in salzsaurer Lösung reduziert. Die Methode ist wohl gegen die direkten Verfahren durch das langwierige Auswaschen des Niederschlages etwas zeitraubend, gibt aber hervorragende Resultate. Die Färbung ist innerhalb weiter Grenzen der Konzentration gleichbleibend; Störungen, wie sie die Briggssche Methodik ergibt, sind nicht zu erwarten, eine Aenderung des Farbtones tritt auch bei stundenlangem Zuwarten nicht auf. Dabei gibt die enorm empfindliche Färbung die Möglichkeit, mit den Materialmengen auf ein Minimum herabzugehen. Ich konnte mit meinen Mitarbeitern Popper und Doleschall[47] Mengen von 0,01 mg P noch mit einer Genauigkeit von $\pm$ 3% bestimmen, und unsere Werte, die wir an Blutfiltratmengen entsprechend 0,166 ccm Blut erhielten, zeigten mit den nach der üblichen Technik erhaltenen Werten absolute Uebereinstimmung. Entsprechend unserem Vorgehen ist von Brehme und Lepski[48] die Methode für kleinste Serummengen — 0,12 ccm — angegeben worden. Weniger günstig liegen unsere Erfahrungen mit der von Terada[49] ausgearbeiteten Methode, die nach vorhergehender Fällung nach Embden die Reduktion des Molybdatkomplexes durch Phenylhydrazin bewirkt. Die rote Farbe ist zur Kolorimetrie wenig geeignet, auch läßt die Uebereinstimmung der Farbtöne viel zu wünschen übrig.

Eine Anzahl von Methoden hat die kolorimetrische Phosphorbestimmung durch Umsetzen des Uranylphosphatniederschlages mit Ferrozyankalium zu braunem Uranylferrozyanid zur Grundlage. Von Sato[50] ist eine solche Bestimmung der Phosphorsäure in Harn und Stuhl, von Yoshimatsu[51] im Blut angegeben worden. Bei beiden Verfahren wird der Uranylphosphatniederschlag nach entsprechendem Auswaschen gelöst und dann mit Ferrozyanid umgesetzt. Ein etwas anderes Verfahren schlagen Hinsberg und Lang[52] ein, welche bei ihrer für Harn ausgearbeiteten Technik den Ueberschuß zugesetzter

n/100-Uranyllösung nach Abzentrifugieren des Phosphatniederschlages in einem aliquoten Teil der Flüssigkeit kolorimetrisch bestimmen. Bei der doch großen Schwierigkeit, welche die Kolorimetrie des braunroten Farbtones bedingt, glaube ich nicht, daß sich diese Methoden gegenüber den wohlausgebildeten anderen kolorimetrischen Verfahren werden durchsetzen können. Irgend einen Vorteil bieten sie meines Erachtens nicht, dagegen ist der subjektive Fehler wegen der Unempfindlichkeit unseres Auges gegen Unterschiede im Gelb und Braun wesentlich größer als bei den anderen Methoden.

Die Verwendung der kolorimetrischen Phosphorsäuremethoden zur Bestimmung des Magnesiums wurde schon in der Einleitung kurz angedeutet. Während dieser Weg derzeit unsere einzige Möglichkeit darstellt, das Magnesium in kleinen Mengen biologischen Materials mit halbwegs befriedigender Genauigkeit zu bestimmen, bietet meines Erachtens die von verschiedenen Seiten vorgeschlagene, auf dem gleichen Prinzip aufgebaute Kalziumbestimmung keine Vorteile gegenüber dem sonst in der biochemischen Mikromethodik ausgearbeiteten Verfahren. Bezüglich der Literatur der Magnesiumbestimmungen sei auf die Arbeit von Tschopp[53] verwiesen.

d) Nephelometrische Methoden.

Der Kolorimetrie mindestens ebenbürtig, wenn nicht an Empfindlichkeit und Exaktheit überlegen, sind die nephelometrischen Methoden. Das Verdienst, die Nephelometrie in den Dienst der Biochemie gestellt zu haben, gebührt Bloor[54], der in Verfolg seiner Untersuchungen als erster eine brauchbare Methodik zur nephelometrischen Phosphatbestimmung in kleinen Mengen von Material angegeben hat. Das Prinzip, das sich dann auch bei Kleinmann[55] wiederfindet, ist der Vergleich der Trübungsintensität, welche durch Fällung der Phosphorsäure mit dem etwas modifizierten Reagens von Pouget und Chouchak (Strychnin-Molybdatlösung) erzielt wird. Von Kleinmann ist die exakte wissenschaftliche Fundierung geschaffen worden und ihm ist auch die Konstruktion eines allen Ansprüchen genügenden Instrumentes zu danken. In der letzten Modifikation, die Kleinmann[56] angibt, wird die Empfindlichkeit der Methodik bis auf Mengen von 0,001 mg = 1 γ P_2O_5 bei Verwendung von Mikrogefäßen angegeben. Die maximale Fehlerbreite beträgt $\pm$ 2%, ist aber bei Mengen von 10 γ aufwärts bedeutend niedriger. Dabei ist die Methodik bequem und einfach auszuführen und für Serienbestimmungen hervorragend geeignet. Voraussetzung ist freilich exaktes

Einhalten der von Kleinmann angegebenen Technik, speziell die Berücksichtigung der Azidität und einer bestimmten Konzentration an Ammonsalz ist hier von ausschlaggebender Bedeutung. Auf mögliche Fehlerquellen durch Veränderung der Trübung und deren Verhütung durch Zusatz von Gummi arabicum als Schutzkolloid hat Juliusberger[57] hingewiesen. Einer Verbreitung dieser so ausgezeichneten Kleinmannschen Methode steht leider der hohe Preis der Nephelometer im Wege, doch dürfte auch hier die Technik in nicht zu ferner Zeit den Bedürfnissen des biochemischen Laboratoriums entsprechen.

III. Die Anwendungsgebiete der einzelnen Methoden.

Die große Fülle der Methoden der Phosphorbestimmung, welche sich die Biochemie zum größten Teil selbst geschaffen hat, legt uns die Frage vor, wann und wo denn die einzelne Methodik anzuwenden ist. Maßgebend kann hier nur der Zweck sein. Wo es sich um analytische Daten handelt, sei es auch bei der Durchführung exakter Bilanzversuche oder zur Gewinnung einwandfreier Einzelwerte, ist die gravimetrische Bestimmung am Platze, in erster Linie die elegante und dabei rasch und einfach zu handhabende Methode von Pregl-Lieb. Neben ihr wird sich auch, besonders bei Anwendung auf bestimmte physiologische Fragestellungen, die Embdensche Technik behaupten. Bei Serienuntersuchungen sowie zur Gewinnung von Durchschnittswerten aus einem größeren Material, wo es weniger auf die exakten absoluten Werte als vielmehr auf konstante relative Werte ankommt, sind die kolorimetrischen Methoden neben der nephelometrischen von Kleinmann am Platze. Bei den Mängeln, die manchen der kolorimetrischen Methoden anhaften, kommen meines Erachtens hier in erster Linie die Methode von Fiske und Subbarow, eventuell mit der von Jendrassik und Lohmann gegebenen Abänderung, und die etwas umständliche Tisdallsche Bestimmung in Frage. Für manche Zwecke, dort nämlich, wo man die Abspaltung von organisch gebundener Phosphorsäure durch Säureeinwirkung vermeiden muß, wird die Bell-Doisysche Technik — unter Einhaltung aller Kautelen — zum Ziele führen. Die Nachteile der Briggsschen Methode — in erster Linie die langsame Farbentwicklung — können wieder mit Vorteil dort eingesetzt werden, wo es gilt, die Menge des durch Säure abspaltbaren organischen Phosphors zu bestimmen. Die eingangs erwähnten schönen Untersuchungen von Eggleton über das Phosphagen sind ein Beispiel dafür. Im Interesse der Forschung wäre nur zu wünschen, daß auch in der Biochemie

sich einzelne erprobte Methoden als Standardmethoden einbürgern würden. So manches, das gerade auf diesem Gebiete produziert wird, trägt nur zu oft den „ad-hoc"-Stempel und die „persönliche Note" in der Technik ist nicht immer von Vorteil.

Literatur.

Gravimetrische Methoden:

[1] Pregl, Quantitative organ. Mikroanalyse. II. Auflage, Berlin, Springer, 1923. — [1a] Wiener, Stella, Bioch. Ztschr., 115, 42, 1921. — [2] Kuhn, R., Hoppe-Seyler, 129, 64, 1923. — [3] Holtz, F., Klin. Wochenschr., Jahrg. 4, 1685—87, 1925; 36. Verh. deutscher Kinderärzte. — [4] Embden, Hoppe-Seyler, 113, 138, 1921. — [5] Myrbäck, Hoppe-Seyler, 148, 197, 1925. — [6] Posternak, S., Bull. Soc. Chim. de France (4), 27, 507—18; ibid. 564—68; ferner C. R., 182, 724—27, 1926.

Titrimetrische Methoden:

[7] Dienes, L., Bioch. Ztschr. 95, 131, 1919; ferner Jl. of biol. Chem., 61, 77, 1924. — [8] Iversen, P., ibid. 104, 25, 1920. — [9] v. Euler und Svanberg, Hoppe-Seyler, 112, 282, 1921. — [10] Kuhn, l. c. 2. — [11] Smith-Brown, Jl. of labor. and clin. med., 9, 203, 1923. — [12] Soerensen, Ref. C., 1925, II, 1546. — [13] Stewart und Archibald, Bioch. Jl., 19, 484, 1925. — [14] Samson, Biochem. Ztschr., 164, 288, 1925. — [15] Macheboeuf, Bull. soc. chim. biol., 8, 464, 1926. — [16] Gaddum, Bioch. Jl., 20, 1204, 1926. — [17] Myrbäck, l. c. 5.— [18] Svanberg, Sjöberg und Zimmerlund, Ark. f. Klin. usw., 8, Nr. 10, S. 1, 1921. — [19] Grote, W., Hoppe-Seyler, 128, 254, 1923.

Kolorimetrische Methoden:

[20] Taylor und Miller, Journ. of biol. Chem. 18, 215, 1914. — [21] R. P. Bell und J. A. Doisy, Journ. of biol. Chem. 44, 55, 1920. — [22] Hsein Wu, Journ. of biol. Chem. 43, 189, 1920. — [23] Denigès C. R., 171, 17, 1920. — [24] Denis, Journ. of biol. Chem. 52, 1, 1922. — [25] Briggs, Journ. of biol. Chem. 53, 13, 1922. — [26] Havard und Reay, Biochem. Journ. 19, 882, 1925. — [27] Warkany, Biochem. Ztschr. 190, 336, 1927. — [28] Briggs, Journ. of biol. Chem. 59, 255, 1924. — [29] Rimington, Biochem. Journ. 18, 1297, 1924. — [30] Martland und Robison, Biochem. Journ. 18, 765, 1924. — [31] Kay und Robison, Biochem. Journ. 18, 755, 1924. — [32] Stanford und Wheatley, Biochem. Journ. 19, 697, 1925. — [33] Roe, Proc. of the Amer. Soc. of biol. Chem. 1925 p. XV; Roe, Irish und Boyd, Journ. of biol. Chem. 67, 579, 1926. — [34] Benett, Journ. of lab. and clin. med. 13, 251, 1927. — [35] Benedict und Theis, Journ. of biol. Chem. 61, 163, 1924. — [36] C. H. Fiske und Y. Subbarow, Journ. of biol. Chem. 66, 375, 1925. — [37] Folin, Journ. of biol. Chem. 51, 377, 1922. — [38] Tschopp, Biochem. Ztschr. 203, 267. 1928. — [39] Jendrassik und Lohmann, Biochem. Ztschr. 178, 419, 1926. — [40] Denigès, C. R. soc. biol. 84, 875, 1921. — [41] Wrangell, Landw. Jahrb. 63, 669, 1926. — [42] Scharrer, Fortschr. d. Landw. 2, 80, 1927. — [43] Gilbert und Smith, Journ. of biol. Chem. 74, 223, 1927. — [44] Green H. H., Journ. agric. Science 18, 372—75; ref. C. 1928, II, 2388. — [45] Kleinmann, Biochem. Ztschr. 99, 19,

1919. — [46] Tisdall, Journ. of biol. Chem. 50, 329, 1922. — [47] Barrenscheen, Doleschall und Popper, Biochem. Ztschr. 177, 39, 1926. — [48] Brehme und Lepski, Klin. Woch., Jahrg. 6, 1927, p. 1905. — [49] Terada, Biochem. Ztschr. 149, 426, 1924. — [50] Sato, Akira, Journ. of biol. Chem. 35, 473, 1919 — [51] Yoshimatsu, Tohoku Journ. of exp. med. 7, 553, 1926. — [52] Hinsberg und Lang, Biochem. Ztschr. 196, 465, 1928. — [53] Tschopp, Helvetica chim. 10, 843, 1927.

Nephelometrische Methoden:

[54] Bloor, Journ. of biol. Chem. 36, 49, 1918. — [55] Kleinmann, siehe l. c. 45. — [56] Kleinmann, Biochem. Ztschr. 174, 43, 1926. — [57] Juliusberger, Biochem. Ztschr. 177, 140, 1926.

Referate.

V. Caglioti. Mikrochemische Reaktionen des Berylliums. (Rend. Accad. Sc. fis. mat. Napoli 34, 4 (1927); C. Bl. 1927, II, 1739).

Verfasser weist darauf hin, daß sich Be als $BeC_2O_4 . K_2C_2O_4$ neben einem großen Ueberschuß von Al nicht einwandfrei erkennen läßt. Geeigneter ist in solchen Fällen die Abscheidung als Beryllium-Uranyl-Natriumazetat $BeNa(UO_2)_3(CH_3COO)_9 . 6H_2O$, welches hellgelbe doppelbrechende Rhomboeder liefert, die bei langsamer Kristallisation eine Größe von 18 μ erreichen können; Erfassungsgrenze 0,078 μg. Anwesenheit von Al stört nicht, wohl aber die von Fe(2)-Salzen. Bei Anwesenheit von Fe(2) und Al-Salzen empfiehlt Caglioti die Abscheidung als Azetylazetonat durch Einwirkung von Azetylazeton auf eine schwach essigsaure Be-Azetatlösung; es entstehen farblose monokleine prismatische Kristalle, die von den Azetylazetonaten des Fe, Al und der seltenen Erde leicht unterschieden werden können. F.

H. Fischer, Nachweis kleiner Mengen Beryllium. (Ztschr. f. anal. Ch. 73, 54 (1928).

Eine alkalische Berylliumlösung färbt sich auf Zusatz von wenigen Tropfen einer stark verdünnten Lösung von Chinalizarin (Alizarin-Bordeaux = = 1, 2, 5, 8. Tetraoxyanthrachinon) in Alkali kornblumenblau. Fügt man die Farbstofflösung hingegen zu einer reinen verdünnten Alkalilauge, so tritt nur die dem Farbstoff eigentümliche Violettfärbung auf, die sich von dem Blau der Be-Lösung scharf unterscheidet. Als Reagenzlösung wird eine 0,05%ige Lösung des Chinalizarins in n/4 bis n/5 NaOH benützt. Schon 1 bis 2 Tropfen erzeugen in 10 ccm der Probelösung, die durch NaOH-Zusatz gleichfalls n/4 alkalisch gemacht wurde, eine Färbung. Erfassungsgrenze: 0,5 μg/cm; Empfindlichkeit 1 : 2,000.000. Bei kleinen Mengen Beryllium empfiehlt sich die Anstellung einer Blindprobe mit reiner NaOH; auf weißem Untergrund sind auch die von Be-Spuren bewirkten Umfarbungen eindeutig zu erkennen. Ammonsalze stören und müssen vorher entfernt werden. P_2O_5 stört nicht. Auch neben großen Mengen Aluminium ist Be nachweisbar; z. B. 0,03% Be in Al-Metall. Die alkalische Reagenzlösung muß stets frisch bereitet werden; beständiger ist eine Lösung in absol. Alkohol, der aber nur 0,005% Chinalizarin aufnimmt. Der Be-Nachweis ist auch neben Schwermetallen wie Pb, Zn, Sb ausführbar; farbige Lösungen von Cu-, Co- und Ni-Salzen lassen sich durch KCN-Zusatz entfärben. Kleine Mengen Eisen (unter 1 mg/cm) stören nicht, wenn man die Fällung von $Fe(OH)_3$ durch Seignettesalzzusatz verhindert. Die angegebene Erfassungsgrenze gilt noch neben der 100fachen Menge Eisen. Größere Eisenmengen müssen vorher entfernt werden.

Magnesium liefert unter den Versuchsbedingungen gleichfalls einen Farbblock (F. L. Hahn, H. Wolf und G. Jäger, Ber. 57 1394 (1924)), der den Nachweis von 1 μg Mg/cm gestattet. Nach Fischer läßt sich aber die verschiedene Beständigkeit des Be- und Mg-Lackes gegenüber Oxydationsmitteln zu einer einwandfreien Unterscheidung heranziehen. In ammoniakalischer Lösung wird der Mg-Lack infolge Auflösung des im Lack enthaltenen $Mg(OH)_2$ vollständig oxydiert, während die Be-Verbindung unverändert bleibt. Bei Gegenwart von Mg ist der

Be-Nachweis dann folgendermaßen auszuführen: 10 ccm der Al- und Fe-freien, annähernd neutralen Lösung werden mit 1 g NH_4Cl und einigen Tropfen einer 0,05%igen Chinalizarinlösung in 2nNH_3 versetzt und noch 10 Tropfen konz. NH_3 hinzugefügt, dann wird unter Umschütteln 5 cm gesättigtes Bromwasser beigegeben. Ist nur Mg vorhanden, so entfärbt sich die Lösung vollständig; der geringste Be-Gehalt macht sich durch bleibende Blaufärbung der Lösung bemerkbar. Auf diese Weise sind noch 0,1% Be in Mg-Metall feststellbar. F.

R. Meurice. Nachweis von Spuren Kadmium. (Ann. Chim. anal. appl. (2) 8, 130, 1926).

Alkaloide, insbesondere Bruzin, bilden mit $CdBr_2 . 2KBr$ oder mit dem analogen Doppeljodid unlösliche Additionsverbindungen, was sich zum Nachweis kleinster Mengen Kadmium verwenden läßt. Eine Spur eines Cd-Salzes, mit 1 ccm einer 1%igen Bruzinsulfatlösung und KBr versetzt, liefert einen reichlichen kristallinischen Niederschlag des Bruzin-Kadmiumbromiddoppelsalzes. Im systematischen qualitativen Analysengang wird nach Abscheidung von Wismut als Hydroxyd das blaue ammoniakalische Filtrat, welches Cu- und Cd-Amminsalze enthält, mit verdünnter Schwefelsäure neutralisiert, hierauf Bruzinsulfat und dann KBr hinzugefügt; vorhandenes Kadmium wird selbst in Spuren durch die Bildung eines weißen Niederschlages angezeigt. F.

Nachweis von Eisenspuren mittels der Rhodanreaktion. **E. Kahane.** (Ann. Chim. anal. appl. 32, 196 (1927).

Der bekannte Eisennachweis mit Alkalirhodaniden läßt sich dadurch empfindlicher gestalten, daß ein nach dem Veraschen oder Verdampfen einer Substanz in einer weißen Porzellanschale verbleibender Rückstand nach dem Abkühlen mit einem Tropfen einer 50%igen Ammonrhodanidlösung befeuchtet und dann mit einem Tropfen 10%iger H_2SO_4 versetzt wird. Die Flüssigkeit färbt sich hiebei rosa, während die Aschenteilchen infolge der lokalen Eisenanreicherung sich lebhaft rosa oder tiefrot anfärben und sich von dem hellen Hintergrund außerordentlich deutlich abheben. Flüssigkeiten werden zweckmäßig mittels eines fein ausgezogenen Röhrchens tropfenweise in dem Maße, als die Verdampfung fortschreitet, auf dieselbe Stelle der Schale gebracht oder nach erfolgter Eindunstung durch Abspülen des Trockenrückstandes auf den Boden des Schälchens neuerlich eingedunstet. Auf diese Weise gelang noch der Nachweis von $5 . 10^{-8}$ g Eisen in 5 ccm Wasser, ferner der Nachweis von Eisenspuren in zahlreichen reinen Reagentien des Laboratoriums, wie Ammonoxalat, Ammonchlorid, Harnstoff usw. Als besonderer Vorteil dieses Verfahrens ist wohl anzusehen, daß Hg-Salze und organische Oxysäuren, welche die Eisen-Rhodanreaktion verhindern, durch das Abglühen entfernt werden. F.

Niels Bjerrum. Ueber titrimetrische Bestimmung der in destilliertem Wasser vorhandenen kleinen Mengen von Kohlensäure und Ammoniak (Base). Ann. Acad. Scient. Fennicae, Serie A 29, 1.

Kleinste Mengen von Ammoniak und Karbonat im Wasser wurden mit einer Genauigkeit von $0,5 \times 10^{-6}$ molar bestimmt und diese Methode an verschiedenen, gut destillierten Wässern erprobt, wobei sich zeigte, daß die Leit-

fähigkeit dieser Wässer von ihrem Ammoniak- bzw. Kohlensäuregehalt herrühren.

R. F. Le Guyon. Mikrotitration des Sulfatanions und des Bariumkations durch Zentrifugovolumetrie. Bull. Soc. chim. France 41, 1387.

Unter Verwendung von n/25 bis n/100 Bariumchloridlösung bzw. Schwefelsäure kann nach dem vom Verfasser angegebenen Verfahren mikroanalytisch Sulfation bzw. Bariumion bestimmt werden.

A. Frost. Ueber die quantitative Bestimmung von Spuren von Chlorion in Präparaten. Trans. Inst. pure chem. Reagents 1927, 35.

Die nephelometrische Ermittlung des Chloriongehaltes von chemischen Präparaten liefert nur dann befriedigende Werte, wenn sowohl Säurekonzentration wie Salzkonzentration von Vergleichs- und Versuchslösung gleich eingehalten wird, die Wahl des Salzes der Vergleichslösung ist gleichgültig.

H. Cowan. Mikro-Elementaranalyse von Roheisen. Iron Coal Trades Rev. 115, 679.

Durch Herstellung geeigneter Schliffe von Roheisen, deren Gewinnung genau beschrieben ist, kann man den Schwefel-, Phosphor- und Graphitkohlenstoffgehalt in diesen Eisensorten abschätzen.

R. Strebinger u. W. Zins. Eine neue Mikro-Wismutbestimmung auf gewichtsanalytischem und maßanalytischem Wege. Mikrochemie 5, 166.

Eugen Schilow. Zur Quecksilbermethode der Kalibrierung von Mikrobüretten. Ztschr. analyt. Chem. 72, 261.

In Ergänzung seiner früheren diesbezüglichen Arbeiten (Ztschr. analyt. Chem. 70, 35) gibt Verfasser an, daß man auch Bürettenröhren von Durchmesser bis 4,2 mm (wobei 1 ccm ungefähr einem Röhrenabschnitt von 7,2 cm entspricht) nach seiner Methode kalibrieren kann, wenn man das Metall über eine Luftblase schichtet.

H. v. Wartenberg u. H. Moehl. Ein Mikropyrometer. Ztschr. physik. Chem. 128, 445.

Hans Kleinmann. Eine neue Methode zur Bestimmung kleinster Arsenmengen. Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med. 11, 61.

Mit Hilfe der beschriebenen nephelometrischen Methode können noch Mengen bis zu 0,0001 mg As genau und schnell ermittelt werden. Durch Ueberführen in das Arsentrichlorid und daraus Herstellung einer fast neutralen As_2O_3-Lösung gelingt es mit Hilfe eines Molybdän-Kokainreagens eine Trübung zu erzeugen, die im Nephelometer nach Kleinmann mit einer Arsen-Standardlösung verglichen wird. Ist das Arsen organisch gebunden, wird mit konzentrierter Schwefelsäure + Salpetersäure aufgeschlossen und nach genauer Vorschrift in das Trichlorid übergeführt.

Leo Kemmerer u. L. T. Hallett. Mikrobestimmung von Karbonatkohlenstoff. Ind. engin. Chem. 19, 1352.

Die Eindampfrückstände von Seewasser werden in einem beschriebenen Mikroapparat durch Salzsäure zerlegt und das freie Kohlendioxyd aufgefangen und bestimmt. Strebinger.

Shintaro Ogawa. Eine verbesserte Mikro-Dumas-Bestimmung des Stickstoffes. Science Reports Tôhoku Imp. Univ. 16,667 (1927). C 1928, I, 380.

Bei der Ausführung des Mikro-Dumas nach Pregl oder Dubsky dauert das Verdrängen der Luft aus den Apparaten durch Kohlendioxyd immerhin einige Zeit und außerdem sind beträchtliche Mengen des Gases nötig. Ein weiterer Nachteil der Methoden liegt, wie Flaschenträger zeigte (Zeitschrift für angewandte Chemie 39, 717; 1926), darin, daß erst beim Erhitzen des Verbrennungsrohres die in den Hohlräumen des drahtförmigen Kupferoxyds adhärierte Luft zum Vorschein kommt. Berl und Mitarbeiter (Ber. 59, 897; 1926) evakuieren vorerst die Apparatur mittels einer Spezialanordnung und heben dann das Vakuum durch Einsaugen von Kohlendioxyd auf. Verfasser ändert die Methode von Pregl beziehungsweise Dubsky teilweise ab und überträgt den Berlschen Kunstgriff auf den Mikro-Dumas. Zwischen Verbrennungsrohr und Azotometer ist ein Kapillardreiweghahn eingeschaltet, dessen nach unten gerichteter Schenkel unter Zwischenschaltung eines Manometers mit der Wasserstrahlpumpe verbunden wird. Für die Gewinnung reinen, luftfreien Kohlendioxyds dienen zwei Kippsche Apparate, von denen der eine auf übliche Weise mit Marmor und Chlorwasserstoffsäure gefüllt wird. Für die Beschickung des zweiten werden farblose Marmorstücke mit Wasser zwecks Entfernung der adhärierten Luft ausgekocht und die Säure durch Mischen gleicher Raumteile konzentrierter reiner Chlorwasserstoffsäure und luftfreien Wassers im lebhaften Kohlendioxydstrom bereitet. Durch Leiten von Kohlendioxyd auf die Oberfläche dieser so verdünnten Säure wird deren direkte Berührung mit der Luft verhindert. Unter Beobachtung dieser Vorsichtsmaßregel wird sie sodann in die obere Kugel des zweiten Kippschen Apparates eingefüllt und deren Tubus sogleich mit einem Gummistopfen verschlossen, durch dessen Bohrung das Zuleitungsrohr des zweiten Kippschen Apparates führt. Auf den Hahn des zweiten Kippschen Apparates folgt zwecks Regulierung des Gasstromes ein Stück Gummischlauch mit einem Habermannschen Quetschhahn und schließlich ein mit Quecksilber gefüllter Blasenzähler. Das Verbrennungsrohr ist nach Dubsky gefüllt.

Vor Beginn der Verbrennung wird bei geschlossenem Hahn am Kippschen Apparat und entsprechender Stellung des Dreiweghahnes mittels der Wasserstrahlpumpe das Rohr evakuiert, hierauf der Dreiweghahn geschlossen und durch Oeffnen des Hahnes am Kippschen Apparat Kohlendioxyd eintreten gelassen. Diese Operation wird dreimal wiederholt und schließlich die Luft in der Kapillare zwischen Dreiweghahn und Azotometer nach Umstellen des ersteren durch einen raschen Kohlendioxydstrom verdrängt. Nach Prüfung des Systems auf Luftfreiheit — es sind inzwischen höchstens 5 Minuten verstrichen — wird die Analyse genau nach Dubsky ausgeführt.

Beleganalysen im Original.

D. Krüger. Mikromethode zur Bestimmung des Stickstoffgehaltes von Nitrozellulose. Fraktionierung von Nitrozellulose durch Diffusion. Zeitschrift für angewandte Chemie 41, 407; 1928.

Verfasser gestaltet die Methode der Bestimmung des Stickstoffgehaltes in Nitrozellulose als Ammoniak zur Mikromethode um. Das Verfahren gliedert sich in Verseifung der Nitrozellulose, Reduktion des Nitratstickstoffs zu Ammoniak und Bestimmung des letzteren durch Destillation und Titration.

5 bis 10 mg Nitrozellulose werden in einem 50 ccm Erlenmeier-Kölbchen mit etwas Alkohol befeuchtet, 5 ccm 30%ige Natronlauge und 0,5 ccm 30%iges Wasserstoffperoxyd zugefügt und ein kleines Trichterchen aufgesetzt. Dann wird bei 50 bis 60° C (Wasserbad) und öfterem Umschütteln solange erwärmt, bis die Substanz vollständig gelöst ist und die Gasentwicklung aufgehört hat. Nach dem Erkalten wird der Inhalt des Kölbchens in den Destillationskolben des Apparates von Parnas-Wagner gebracht, 10 ccm 30%ige Natronlauge zugegeben und darauf 0,25 g feingepulverte Devardasche Legierung mit etwas Wasser hineingespült. Die Vorlage, mit 10 ccm 1/70-n-Salzsäure beschickt, muß zu dieser Zeit bereits angefügt sein. Wenn die Wasserstoffentwicklung im Destillationskolben fast zum Stillstand gekommen ist, wird das gebildete Ammoniak in 15 Minuten im Dampfstrom überdestilliert. Dann wird bei gesenkter Vorlage noch 5 Minuten zwecks Nachspülung destilliert und der Inhalt der Vorlage mit 1/70-n-Natronlauge in Gegenwart von Methylrot zurücktitriert.

Bei der Diffusion einer Nitrozelluloselösung gegen das reine Lösungsmittel findet außer einer Zerlegung in kolloidchemisch verschiedene Fraktionen auch eine chemische Differenzierung, wie die Bestimmung des Stickstoffgehaltes im Trockenrückstand der untersten und obersten Schichten beweist, statt. Da für die Diffusionsgeschwindigkeit Molekulargewicht und Teilchengröße maßgebend sind, reichern sich niedrigere Nitrierungsprodukte und etwaige niedrig molekulare Abbauprodukte der Zellulose in den oberen Schichten der Diffusionssäule an.

H. Leopold. Einfache Apparatur zur mikroanalytischen Bestimmung von durch Lauge abspaltbarem Stickstoff. Chemiker-Zeitung 52, 309 (1928).

Es wird für die Ammoniakbestimmung eine Apparatanordnung angegeben, die sich vollständig aus den in jedem Laboratorium vorhandenen Gerätschaften zusammenbauen läßt.

Ein Rundkölbchen von 150 bis 200 ccm Inhalt ist mit einem doppelt durchbohrten Kautschukstopfen verschlossen. Durch die eine Bohrung ist ein Tropftrichter für die Lauge, dessen Ende vorteilhaft umgebogen und etwas verengt ist, eingesetzt, während durch die zweite ein stumpfwinkelig gebogenes Tulpenrohr (Chlorkalziumrohr) oder ein zwischen den Kugeln ebenso gebogenes Zweikugelrohr derart führt, daß es mit der unteren Fläche des Stopfens abschneidet. Auf das Destillationsrohr folgt, mit Kautschukstopfen oder Gummischlauch verbunden, ein spitzwinkelig gebogenes Glasrohr, dessen nach abwärts gerichteter Teil mit einem Kühlmantel (in der Mitte auseinandergeschnittener Liebigkühler) umgeben ist.

2 bis 5 mg Substanz, im Wägeschweinchen oder Stanniolhütchen abgewogen, werden in das Rundkölbchen gebracht und aus dem Tropftrichter 30%ige stickstofffreie Natronlauge und so viel Wasser einlaufen gelassen, daß das Trichterrohr mit der Flüssigkeit vollständig gefüllt ist. Zur Absorption des Ammoniaks dient 1/70-n-Salzsäure, die auch gegen chemisch reines Ammonsulfat, das man im oben beschriebenen Apparat der Destillation mit Lauge unterwirft, gestellt werden kann. Der Kolbeninhalt wird 15 bis 20 Minuten im Sieden erhalten, nach Tiefstellen der Vorlage noch 5 Minuten zwecks Ausspülung des Rohrinneren nachdestilliert und die überschüssige Salzsäure schließlich mit Methylrot als Indikator durch 1/70-n-Lauge zurücktitriert.

Die Verwendung von Stanniolhütchen hat den Vorteil, daß durch die beim Erwärmen einsetzende Wasserstoffentwicklung Siedeverzug hintangehalten wird. Ein neuer oder längere Zeit nicht benützter Apparat muß ausgedämpft werden.

Bonifaz Flaschenträger. Der elektrische Mikroverbrennungsofen von Heraeus. Zeitschrift für angewandte Chemie 41, 840; 1928.

Der Ofen besteht aus drei auf einem Gestell montierten Heizvorrichtungen mit den dazugehörigen Regulierwiderständen. Die 7 und 19 cm langen Oefen sind in der Richtung des Verbrennungsrohres hin und her verschiebbar, die Vorderseite kann behufs Temperaturbeobachtung aufgeklappt werden und in diesem Zustand sind beide Oefen auch nach rückwärts verschiebbar, so daß das Rohr vollständig frei liegt. Die mit Zymol gefüllte Granate wird elektrisch auf 180° C erhitzt (Anheizdauer 10 Minuten). Stromverbrauch zirka 900 Watt pro Stunde.

Hält man das Rohr durch Regulierung des Widerstandes auf etwa die Mitte bloß auf deutliche Rotglut, so bleiben Supremaxröhren lange Zeit brauchbar und Störungen beim Zurückschieben der Oefen infolge Verbiegen des Rohres treten nicht auf. Die Granate kann durch Lösen von zwei Schrauben abgenommen werden, was zum Zwecke der N-, S- und Halogenbestimmung erfolgt.

Vorteile gegenüber der Gasheizung: Temperaturkonstanz der Granate ist leichter zu erreichen und zu halten. Die Arbeit ist sauberer, weniger anstrengend und gestaltet sich gerade für den Anfänger leichter. Störungen durch Wärmestrahlung, Wasserdampf- und Kohlendioxydbildung fallen weg. Die Temperatur des Verbrennungsraumes bleibt viel leichter konstant, so daß die Gründe für ein besonderes Wägezimmer wegfallen.

George Kemmerer und **L. T. Hallett.** Verbesserter Mikro-Kjeldahl-Ammoniakdestillationsapparat. Ind. engin. Chem. 19, 1295; 1927.

Abänderung des von Pregl angegebenen Apparates zum Zwecke der Stickstoffbestimmung in Eindampfrückständen (80°) von Seewasser. Sämtliche Schlauchverbindungen sind durch Pyrexglas ersetzt. Vorzeitige Kondensation des Dampfes vor Eintritt in das Destillationskölbchen wird vermieden. Die Bestimmung des Ammoniaks im Destillat erfolgt bei geringen Mengen durch Kolorimetrie (Neßler), ansonsten azidimetrisch.

John Ralph Nicholls. Bestimmung kleiner Mengen von Benzoesäure und Zinnamylsäure mit einigen Bemerkungen über die kolorimetrische Bestimmung der Salizylsäure. Analyst 53, 19—29.

Es wird ein Verfahren zur Bestimmung der Benzoesäure durch teilweise Ueberführung derselben in Salizylsäure mittels Wasserstoffperoxyd bei Gegenwart von Eisen-(3)-chlorid in der Wärme angegeben. Die Salizylsäure wird kolorimetrisch entweder nach der Ferri-Salizylatmethode oder nach Jerissen bestimmt. Zinnamylsäure wird zuvor in neutraler oder alkalischer Lösung bei gewöhnlicher Temperatur quantitativ zu Benzoesäure oxydiert. Um übereinstimmende Resultate zu erhalten, müssen bei der Oxydation der Benzoesäure zu Salizylsäure die zu benützenden Lösungen von bestimmter Konzentration sein und die Vorschriften genau eingehalten werden. Anwendung der Methode auf die Lebensmittelprüfung wird besprochen.

Berta Saiko-Pittner. Mikro-Kjeldahl-Versuche. Pharm. Presse 33, 60.

Die bei der Stickstoffbestimmung von Pyramidon, Phenylhydrazin und Semikarbazid nach Kjeldahl erhaltenen zu niedrigen Werte erklären sich durch Entweichen von elementarem Stickstoff beziehungsweise Stickoxyden. Deshalb werden die üblichen Zusätze von Kupfersulfat und Kaliumsulfat durch Metalle, von denen sich Selen am besten bewährte, zwecks Reduktion von N_2, ersetzt. Indes waren die Resultate in einigen Fällen noch etwas zu niedrig, jedoch brauchbarer als die der anderen Versuche.

Bennosuke Kubota und **Takeo Yamane.** Eine Methode zur Bestimmung des Molekulargewichts organischer Substanzen in geringen Mengen durch Gefrierpunktserniedrigung. Scient. Papers Inst. physical. chem. Res. 6, 306. Vgl. auch Bull. chem. Soc. Japan 2, 209.

Die Gefrierpunktserniedrigung organischer Lösungsmittel wird an der Widerstandsänderung eines um das Rohr mit der Flüssigkeit gewickelten Silberdrahtes gemessen.

J. G. van der Saude. Ein vereinfachtes Gerät zur Mikrostickstoffbestimmung nach Kjeldahl. Chem. Weekbl. 24, 558; 1927.

Auf das Einleiten von Wasserdampf während der Destillation wird verzichtet.

M. Wagenaar. Mikrochemische Reaktion auf Zitronensäure. Pharm. Weekbl. 64, 1135; 1927.

Die sicherste Reaktion beruht auf der Bildung von Jodazeton. Zu einem Tropfen der zu prüfenden Lösung setzt man einen Tropfen 0,1 n-Jodlösung, Jodkalium und etwas 30%ige Essigsäure hinzu. Nach vorsichtigem Erwärmen auf dem Wasserbad wird ein Tropfen 3%ige Kaliumpermanganatlösung zugefügt, wodurch ein Niederschlag von weißen dünnen, rechts auslöschenden, negativ doppelbrechenden Kristallen entsteht. So sind noch 0,2 mg Zitronensäure (1:100) nachzuweisen.

Alfred T. Shohl. Eine Pipette für Mikroanalysen. Journ. Amer. Chem. Soc. 50, 417.

Es wird eine zweckmäßige Aenderung der van-Slyke-Pipette beschrieben.

Alfred T. Shohl. Apparat für Mikrofiltration. Journ. Amer. Soc. 50, 417.

Auf einer in der Spitze eines Trichterchens liegenden Glaskugel wird eine dünne Asbestschichte hergestellt.

Harry Dugald Keith Drew und **Charles Raymond Porter.** Notiz zur mikroanalytischen Methode der Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff nach Pregl. Journ. Soc. chem. Ind. 47, T. 17.

Chlorkalzium in den Trocken- und Absorptionsapparaten wird durch ein Gemisch von Phosphorpentoxyd und Glaswolle ersetzt. Dadurch werden ungenaue Ergebnisse vermieden.

E. M. Chamot und **C. W. Mason.** Chemische Mikroskopie. I. Kristallisationsversuche als Einführung in die Metallographie. Journ. chem. Education 5, 9—24.

II. Ihre Bedeutung für die Ausbildung von Chemikern. Journ. chem. Education 5, 258—268.

Die Entwicklung der mikrochemischen Methoden in der qualitativen Analyse wird geschildert.

S. G. Lipsett, F. M. G. Johnson und **O. Maaß.** Ein Mikrokalorimeter. Journ. Amer. Soc. 50, 1030.

Der Apparat ist ein kleiner um eine Achse drehbarer Platinzylinder, der nur 4 ccm Lösungsmittel benötigt. Kalorimeter und Wasserbad werden automatisch auf gleicher Temperatur gehalten. Temperaturmessung erfolgt mittels Platinwiderstandsthermometer.

Samuel E. Hill. Eine einfache optische Methode, um die Diffusion von Sauerstoff durch Kautschuk und einige andere Substanzen zu beweisen. Science 67, 374.

Kautschuk ist für Sauerstoff durchlässig, was mittels Leuchtbakterien nachweisbar ist. Als bestes Mittel zum Ausschluß von Sauerstoff beziehungsweise zum Abdichten erwies sich viskoses Motorenöl.

C. M. Cooper und **E. V. Fasce.** Eine Mikrofraktionierkolonne für analytische Zwecke. Ind. engin. Chem. 20, 420.

Der Apparat eignet sich zur Trennung kleiner Volumina von Flüssigkeitsgemischen (10 ccm) mit einem Siedeintervall von nur 10° und ist auch für Vakuumdestillationen brauchbar. Die Fraktionierungsdauer schwankt zwischen 30 Minuten für 10 ccm einer binären Mischung von 15° Siededifferenz und 90 Minuten für kompliziertere Mischungen.

James H. C. Smith und **William G. Young.** Modifikation von Rasts Mikromethoden zur Molekulargewichtsbestimmung. Journ. biol. Chemistry 75, 289; 1927.

Auf 1 bis 3 mg Substanz wird die zehnfache Menge Kampfer genommen. Nach dem Einfüllen wird die Schmelzkapillare abgeschmolzen und Erstarrungs- und Schmelzpunkt bestimmt. Abweichungen ergaben sich nur bei Alkaloiden, Osazonen und Säuren infolge Nebenreaktionen mit dem Kampfer.

Hans Kleinmann. Ein neues Mikrokolorimeter und seine Anwendung. Chem. Fabrik 1928, 263 und 278.

Das Mikrokolorimeter ist nach dem Dubosq-Prinzip gebaut. Die Verkleinerung des Flüßigkeitsvolumens wird nicht durch Verkleinerung der Schichthöhe, sondern durch stärkste Verkleinerung der Radien der Tauchstäbe und der Gefäße zur Aufnahme der Flüssigkeit erreicht. Das zur Messung notwendige Flüssigkeitsvolumen beträgt nur 1 ccm, wobei die Tauchhöhe bis zu 60 mm und mehr variiert werden kann. Der Gesichtsfeldwinkel beträgt zirka 4,5°, das Gesichtsfeld ist also fast so groß wie bei Apparaten mit 50 ccm Fassungsvermögen. Meßgenauigkeit rund 1%. Optische und mechanische Konstruktion sind genauestens beschrieben. Die Handhabung des Instrumentes hat etwas behutsamer als sonst zu geschehen und einige Besonderheiten sind zu beobachten. So ist völlige Sauberkeit des Arbeitens Voraussetzung; alle Lösungen müssen filtriert sein, da Luftbläschen und Fasern stören. Die Meßtechnik ist ausführlich in der Zeitschrift für Biochemie 179, 276 (1926) beschrieben. Verwendung zur Stickstoffbestimmung durch Kolorimetrie (Neßler), vgl. Zeitschrift für Biochemie 179, 287 (1926).

J. Grüß. Ueber den mikrochemischen Nachweis der Milchsäure. Wochenschrift Brauerei 45, 16.

In sauren Gärflüssigkeiten fällt die mikrochemische Reaktion auf Milchsäure von Behrens (rötliche Kristalldrusen von Kobaltlaktat) nicht genügend scharf aus, da hier die Kristallisation schwierig oder gar nicht eintritt. Daher soll auf jeden Fall das Hauptverfahren des Milchsäurenachweises, Spaltung in Azetaldehyd und Ameisensäure, vorgenommen werden. Zu 3 ccm der Probeflüssigkeit setzt man 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure und destilliert bis etwa zur Hälfte ab. Zu dem halben Destillat fügt man Nitroprussidnatrium, so daß die Flüssigkeit schwach gelblich erscheint, wonach 1 Tropfen Piperidin hinzugegeben wird. Eine Blaufärbung zeigt Azetaldehyd an. Zur anderen Hälfte des Destillates wird unter schwachem Erwärmen Magnesiumoxyd zugesetzt, hernach zur Entfernung des Azetaldehyds stärker erhitzt. Die nicht zu verdünnte Lösung wird auf einen Objektträger gebracht und ihr einige Körnchen Cernitrat zugefügt. Es entstehen Kristalle von Cerformiat; sie zeigen in polarisiertem Licht ein negatives Kreuz, so genannt, weil es in der Richtung der Achsen dunkel erscheint. Die Aldehydreaktion mit Piperidin ist jedoch empfindlicher als der Nachweis mit Cerformiat. Geeignete Destillationsapparatur und Mikrophotographien der Kristalle im Original.

Zwecks Isolierung der Milchsäure aus Produkten der Gärungsindustrien müssen diese mit immer neuen Mengen Aether und möglichst oft ausgeschüttelt

werden. Der Aetherrückstand wird dann in 3 ccm Wasser gelöst und die Lösung den oben angeführten Reaktionen unterworfen. Da eine Gärflüssigkeit Aldehyd enthalten kann, ist vor der Aetherextraktion stets zu erwärmen. Die sehr umständliche Aetherextraktion kann auch umgangen werden: kalt oder warm bereitete wässerige Auszüge der zu prüfenden Substanz werden nach Einengen auf 5 ccm zur Untersuchung verwendet.

Auf die Aldehydreaktion allein darf man sich nicht verlassen, da auch andere Stoffe, wie zum Beispiel Brenztraubensäure, Aldehyd abspalten können.

Beaucourt.

Paul Kuhn. Einfache Schnellmethode zum quantitativen Nachweis von organisch gebundenem Jod in Körperflüssigkeiten. (Aus der medizin. Klinik Lindenburg der Univ. Köln.) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. 131 (1928), 262.

Um die Ausscheidung injizierten Tetrajodphenolphthaleinnatriums in die Galle zur Prüfung der Leberfunktion rasch prüfen zu können, hat der Verfasser eine Methode ausgearbeitet, die es ermöglicht, in 20 bis 30 Minuten organisch gebundenes Jod in Körperflüssigkeiten quantitativ zu bestimmen. Prinzip der Methode: Mineralisierung der Körperflüssigkeit durch die Soda-Salpeterschmelze, wobei Jodalkali und Kaliumnitrit sich bildet. Zufügen von Schwefelsäure bewirkt Freiwerden von Jod durch die zwischen salpetriger Säure und Jodwasserstoffsäure stattfindende Reaktion. Nach Neutralisieren mit $NaHCO_3$ erfolgt Ausschütteln des Jods mit Chloroform und ohne vorherige Trennung des Chloroforms von der wässerigen Flüssigkeit direkte Titration mit n/100-Thiosulfatlösung. Da nur ungefähr die Hälfte des vorhandenen Jods auf diese Weise bestimmt wird, ist Multiplikation mit 2 erforderlich. Die Genauigkeit reicht für die praktischen Zwecke der Klinik aus.

Ausführung der Bestimmung: Die zu untersuchende Probe wird in einem Eisentiegel mit Soda-Salpeter (auf 1 Teil Soda 2 Teile Salpeter) innig gemischt und bis zum ruhigen Schmelzen erhitzt. Auskochen der Schmelze mit heißem Wasser, Filtrieren, Nachwaschen von Tiegel und Filter mit heißem Wasser, so daß Gesamtflüssigkeit 100 bis 150 ccm beträgt, Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure, Ausschütteln mit Chloroform, so daß überstehende wässerige Flüssigkeit farblos wird. Neutralisieren mit festem $NaHCO_3$ und Titrieren mit n/100-Thiosulfat bis zur Entfärbung. R. Wasicky.

Hermann Eitel. Ueber eine empfindliche Methode des Urannachweises und die Lokalisation des Urans im tierischen Organismus bei der Uranvergiftung. (Aus dem Pharmakol. Inst. d. Univ. München.) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. 135 (1928), 188.

Um die Ausscheidungsverhältnisse der Uranverbindungen, besonders die Lokalisation des Urans in den tierischen Geweben bei Uranvergiftungen besser studieren zu können, wurde eine sehr empfindliche Methode des Urannachweises ausgearbeitet. Es zeigte sich dabei, daß bei einer tödlichen Uranvergiftung das Uran lediglich in der Nierenrinde abgelagert ist; das Nierenmark, ebenso alle anderen Organe sind uranfrei. Prinzip der Methode: Die zu prüfenden Organe werden verascht, sodann mit Salpetersäure abgeraucht

oder die Asche mit Borax verschmolzen. Im filtrierten Licht der Hanauer Ultraviolett-Analysenlampe zeigen die uranhaltigen Aschen eine grüngelbliche Fluoreszenz. Der Rückstand von 1 ccm einer Uranlösung 1 : 500,000 ist noch durch Fluoreszenz erkennbar.

Ausführung der Bestimmung: Veraschung des Organs im Porzellantiegel, Abrauchen der Asche einigemal mit konzentrierter Salpetersäure und Einstellen des Tiegels ins filtrierte Licht der Lampe. Wenn Lokalisation im Gewebe nachgewiesen werden soll, so Anfertigen von Gefriermikrotomschnitten von 50 bis 100 µ. Durchtränken der Schnitte mit konzentrierter wässeriger Boraxlösung, vorsichtig auf einer Glimmerplatte ausbreiten, bei 100° trocknen. Sodann bei 880° in einem Muffelofen veraschen und schmelzen. Nach Abkühlen im filtrierten Licht untersuchen. R. Wasicky.

E. **Glimm.** Quantitative Bestimmung geringer Mengen von Fuselöl. Nach Versuchen von H. Schröder u. F. Stentzel. (Aus d. Lab. für Nahrungsmittelchemie und landwirtschaftliche Gewerbe der Techn. Hochschule Danzig.) Ztschr. f. Unters. der Nahrungs- u. Genußmittel 55 (1928), 173.

Die Methode der Fuselölbestimmung in alkoholischen Getränken nach B. Röse erfordert ungefähr 100 ccm der alkoholischen Ausschüttelungsflüssigkeit und 20 ccm Chloroform. Dieselbe Genauigkeit wird erzielt, wenn die Schüttelbürette kleiner dimensioniert und von kleineren Flüssigkeitsmengen ausgegangen wird.

Ausführung der Bestimmung: Genau wie bei der Originalmethode. Die zu untersuchende alkoholische Flüssigkeit wird mit absolutem Alkohol oder mit destilliertem Wasser auf 24,7 Gewichtsprozent oder 30 Volumenprozent entsprechend der Dichte $d^{15^0} = 0{,}9656$ gebracht. Einfüllen von 20 ccm oder 10 ccm der Flüssigkeit in die von Ernst Leitz in Berlin NW 6 hergestellten Schüttelbüretten I bzw. II, nachdem 4 ccm bzw. 2 ccm Chloroform in den Apparat eingefüllt worden sind. I besteht aus einem mit Glasstöpsel verschlossenen Schütteltrichter mit ungefähr 25 ccm Fassungsraum, endet in einen 4 ccm fassenden Zylinder, der durch eine Glasröhre mit Teilung mit der Schüttelbirne verbunden ist. Die Teilung gestattet ein genaues Ablesen von 0,02 ccm und Schätzen von 0,01 ccm. Leitz-Apparat II ist kleiner dimensioniert, besitzt einen Zylinder von 2 ccm Inhalt und eine Teilung mit der Ablesungsmöglichkeit von 0,01 ccm und Schätzung von 0,005 ccm. Zur alkoholischen Flüssigkeit wird 0,2 bzw. 0,1 ccm Schwefelsäure von $d^{15^0} = 1{,}286$ zugefügt. Einstellen auf 1,5° und etwa 150mal durchschütteln. Bei 15° absitzen lassen und ablesen der Volumzunahme des Chloroforms. Vergleichen mit der Volumzunahme des Chloroforms durch reinen Alkohol. Aus der Differenz der Steighöhen und der dazugehörenden Tabellen des Reichsgesundheitsamtes den Fuselölgehalt bestimmen. R. Wasicky.

Gustav Klein und **Herma Bartosch.** Der mikrochemische Nachweis der Alkaloide in der Pflanze. V. Der Nachweis von Berberin. Oesterr. Botan. Ztschr. LXXVII (1928).

Von den untersuchten Reagentien haben sich zur Kristallfällung von Berberinlösungen am besten 2%ige Salpetersäure, Kaliumbromid 10%ig und Jod-

jodkalilösung bewährt. Mit Salpetersäure entstehen intensiv gelbe Doppelbüschel und schmale Nadeln; Erfassungsgrenze 0,7 γ in wässeriger, 2,5 γ in alkoholischer Lösung. Kaliumbromid gibt beim langsamen Abdunsten unter Deckglas lichtgelbe Nadeln; Erfassungsgrenze 1,2 γ. Jodjodkali zu alkoholischen Berberinlösungen zugefügt bewirkt die Ausbildung gelber bis weißer Kristalle, die meist zangenförmig überkreuzt sind; Erfassungsgrenze 0,6 γ. In Pflanzenschnitten bilden sich schöne Kristalle mit den erwähnten Reagentien nur bei größerem Berberingehalt aus (Berberis vulgaris, B. lycium, B. lucida, B. canadensis, Mahonia aquifolium, M. pinnata, Hydrastis canadensis und Xanthoxylum „Bossua"). Die Mikrosublimation von Pflanzengewebe verläuft negativ, während reines Berberin bei 240° schön sublimiert. Der Nachweis im Pflanzengewebe verläuft am besten, wenn man im Mikroextraktionsapparat 0,1 g bei alkaloidreichen, 1 bis 2 g bei alkaloidarmen Pflanzen mit 3 bis 4 ccm Wasser oder Alkohol eine halbe Stunde kocht, abfiltriert, auf 1 bis 1,5 ccm einengt und die Reaktion in 1 bis 2 entnommenen Tropfen durchführt. Außer in den oben genannten Pflanzen wurde Berberin nachgewiesen in Evodia hortensis, Xanthoxylum clava Herculis, X. odontalgicum und Nandina domestica. Der Nachweis verlief negativ in: Evodia meliifolia, Orixa japonica, Xanthoxylum americanum, Berberis cretica, Podophyllum Emodi, P. peltatum, Caulophyllum thalictroides, Cocculus laurifolius, Coptis trifolia, Tinospora cordifolia, Jeffersonia diphylla, Xylopia frutescens, X. grandiflora. R. Wasicky.

Gustav Klein und **August Schulhab.** Der mikrochemische Nachweis der Alkaloide in der Pflanze. VI. Der Nachweis von Hydrastin. Oesterr. Botan. Ztschr. LXXVII (1928), 14.

Auf Grund der durchgeführten Versuche wurde nachstehendes Verfahren für den Nachweis ausgearbeitet: 1. Gewebsstückchen werden mit Ammoniak durchfeuchtet, mit Aether-Petroläther im Mikroextraktionsapparat extrahiert, mit einem kleinen Stückchen Natriumhydroxyd versetzt, um die kristallisationshemmenden Stoffe (Chlorophyll und Lipoide) zu verseifen. Tropfen dieser Lösung werden auf dem Objektträger in die Ammoniakkammer eingestellt, bis nach Stunden farblose Kristalle von Hydrastin ausgefallen sind. Man kann auch so vorgehen, daß man Schnitte oder ein wenig des Pulvers mit der Aether-Petroläthermischung versetzt und unter einer mit Ammoniakgas gesättigten Glasglocke eindunsten läßt. Es entstehen farblose Hydrastinprismen und gelbe Tropfen, aus denen nach einiger Zeit Hydrastin gleichfalls auskristallisiert. 2. Das feingepulverte Material wird mit verdünnter Salpetersäure zu einem Brei angerührt und bei 60° eintrocknen gelassen. Es findet oxydative Spaltung zu Hydrastinin und Opiansäure statt. Das Hydrastinin kann im Vakuumsublimat oder im Präparat selbst durch die mit Kaliumpermanganat entstehenden charakteristischen Kristalle (Erfassungsgrenze 0,5 γ) oder direkt durch seine starke Fluoreszenz (mit freiem Auge noch 1 : 100.000 sichtbar) erkannt werden. Zum Nachweis der Opiansäure versetzt man die Masse mit einem Tröpfchen Phosphorsäure und erwärmt auf 80 bis 90°, weiter im Mikrosublimationsapparat auf 180° durch eine Viertelstunde. Das Sublimat zeigt neben Zersetzungsprodukten farblose dünne Nadeln und verzweigte, oft farblose, bis 2 mm lange

Kristalle der Opiansäure, die bei 150° schmilzt und mit Harnstoff ein charakteristisches Ureid gibt. Es sei noch erwähnt, daß die direkte Sublimation von Hydrastin nicht zu Hydrastinkristallen, wie in der Literatur angeführt ist, führt, sondern zu Zersetzungsprodukten. R. Wasicky.

L. Rosenthaler. Applied Phytomicrochemistry (Angewandte Phytomikrochemie, Bern). Americ. Journ. of Pharmac. 1928, S. 92.

Der von dem genannten Autor in der Pharmazeutischen Zentralhalle 1926, S. 67, veröffentlichte Artikel ist in obiger Zeitschrift ins Englische übersetzt. Auf Grund der am Pharmazeutischen Institut in Bern betriebenen praktischen phytomikrochemischen Uebungen stellt der Verfasser ein Unterrichtsprogramm auf, das in einem Semester erledigt werden kann. In die Untersuchungen ist der Nachweis folgender Kationen und Anionen sowie organischen Verbindungen in der Pflanze bzw. Droge einbezogen: Kalium, Natrium, Kalzium, Magnesium, Eisen, Chloride, Jodide, Nitrate, Phosphate, Karbonate, Kieselsäure, Glukose und Fruktose, Phytosterin, Zimtaldehyd, Eugenol, Myristicin, Amygdalin, Arbutin, Sinigrin, Sinalbin, Hesperidin, Strophanthin, Saponin, Oxymethylanthrachinone, allgemeine Alkaloidreaktionen, Morphin, Cinchona-Alkaloide, Piperin, Koffein, Theobromin, Berberin, Strychnin und Brucin, Gerbstoffe, Nachweis von Gerbstoff und Alkaloid, Cantharidin, Gentisin, Santonin, Curcumin, Albumin, Emulsin, Urease. Mayrhofer.

L. Rosenthaler. Chemical Characterization of Drugs (Chemische Charakterisierung von Drogen). Bern. Americ. Journ. of Pharmac. 1928, S. 454.

Die in den Pharmaceutica Acta Helvetiae 1926, 24. April, S. 72, erschienene Veröffentlichung ist wiedergegeben. Folgende Drogen werden entweder nach Extraktion oder Sublimation der wichtigen Bestandteile mikrochemisch charakterisiert: Pulpa Tamarindi (Nachweis der Weinsäure als Kalziumtartrat, des Kaliums als Kaliumkupferbleinitrit); Piper nigrum (Nachweis des Piperins als Piperinkadmium); Cortex Cinnamomi (Nachweis des Zimtaldehyds mit Phenylhydrazin); Caryophyllus (Nachweis des Eugenols mit gesättigter Kalilauge oder 3%iger mit Natriumbromid gesättigter Natronlauge, Nachweis des Caryophyllins durch Sublimation); Flores Cinae (Nachweis des Santonins mit alkoholischer Lauge); Semen Myristicae (Nachweis der bei der Extraktion mit Chloroform erhaltenen Nadeln im Polarisationsmikroskop zwischen gekreuzten Nikols und mit Phlorogluzinsalzsäure); Macis (wie Semen Myristicae); Amygdalae amarae (Nachweis der Blausäure mit Silbernitrat, des Benzaldehyds mit salzsaurem Phenylhydrazin, Hydrazinsulfat (Aldazin), durch das Räucherverfahren in der Glaskammer nach Molisch); Semen Sinapis albae (Nachweis des Sinalbins mit Millons Reagens); Semen Sinapis nigrae (Nachweis des Schwefels im Allylsenföl als Schwefelsäure mit Bariumchlorid nach Oxydation mit salzsaurer Kaliumpermanganatlösung, als weitere Reaktion Fällung mit Phenylhydrazin); Folia Uvae Ursi (Nachweis des Arbutins durch Sublimation des als Aglykon bei der Spaltung entstehenden Hydrochinons).

Mayrhofer.

E. Siersch. Zur Mikrochemie von Illicium verum Hook und Illicium religiosum Sieb. Pharmazeut. Zentralhalle 1928, S. 581.

Nach Besprechung der früheren Literatur werden die teils makrochemisch, teils mikrochemisch ausgeführten Versuche und Beobachtungen angeführt. Die aus den Karpellen von Illicium religios. durch Extraktion mit 96%igem Alkohol gewonnenen Kristalle wurden durch Reaktionen, Mikroschmelzpunkt, ferner durch Sublimation sowohl für sich, als auch durch direkte Sublimation aus den Karpellen als Sikimmisäure erkannt. Die Mengen an Sikimmisäure sind in Illicium religios. bedeutend größer als in Illicium ver. In den Samen von Illicium religios. und Illicium ver. konnte Sikimmisäure nicht nachgewiesen werden. Bei Extraktionsversuchen mit Samen von Illicium religios. wurden kristallinische Körper gefunden, die aber wegen der geringen Menge chemisch nicht identifiziert werden konnten. Der Nachweis von Saponin wurde mittels der Reaktionen nach Rossol sowie Combes zu führen versucht. Nach den Ergebnissen mit der Combesschen Reaktion kann sowohl in den Früchten von Illicum ver. als auch Illicium religios. auf das Vorhandensein von geringen Mengen eines Saponins geschlossen werden.

Mayrhofer.

S. Prikladowizky u. Appollonow. Jodometrische Mikromethode zur Bestimmung der Chloride. (Physiol. Laborat., Militärmediz. Akademie, Leningrad.) Bioch. Ztschr. 200, 135, 1928.

Die Methode sucht die Fehlerquellen der Volhardschen Chloridbestimmung, welche den heute am meisten geübten Verfahren von Rusznyak und Whitehorn anhaften, dadurch zu umgehen, daß nach Filtration vom abgeschiedenen AgCl das überschüssige $AgNO_3$ jodometrisch bestimmt wird.

Ausführung: 0,1 ccm Blut oder Serum (ev. auch 0,005 ccm) werden mit exakter Pipette in ein mit 2 bis 3 ccm W. beschicktes Erlenmeyerkölbchen von 25 bis 30 ccm Inhalt übergeführt, die Pipette durch mehrmaliges Aufziehen und Ausblasen nachgespült. Zusatz von 2 ccm (für Blut) bzw. 1 ccm (für Serum) einer 1 : 3 verdünnten halogenfreien Salpetersäure und 2 ccm n/100-$AgNO_3$-Lösung. Erhitzen zum Sieden (Sandbad), Zerstören der organischen Substanz nach Korányi-Rusznyak mit 10 bis 12 Tropfen gesättigter Permanganatlösung. Nach 10 bis 12 Minuten Kochen wird das überschüssige Permanganat durch einige Tropfen einer Glukoselösung zerstört. Abkühlen, vom ausgefallenen AgCl durch ausgewaschenes Wattefilter filtrieren, dreimal mit je 3 ccm W. nachwaschen. Zusatz von 3 bis 4 Tropfen Stärkelösung, Titration mit n/100 Jodlösung bis zur Blaufärbung. Bei der Berechnung werden von der verbrauchten Jodlösung 0,01 ccm als Blindwert abgezogen. Berechnung mg %Cl (bei 0,1 ccm Blut bzw. Serum) = (A—(B—0,01)) . 355, wo A zugesetzte Menge n/100 $AgNO_3$, B verbrauchte ccm n/100 I bedeuten.

H. K. Barrenscheen.

Alvin R. Harnes. The colorimetric determination of lipoid phosphorus in blood. (Kolorimetrische Bestimmung des Lipoidphosphors im Blut.) Laborat. of the Rockefeller Institute for Medical Research, New York. Il. of biol. Chem. Vol. 77, S. 405, 1928.

Vereinfachung der Bestimmung des Lipoidphosphors nach der Methode von Briggs (Il. of biol. Chem. 53, 13, 1922), welche die Oxydation der organischen Substanz umgeht und die im Molybdän-Reagens von Briggs erhaltene H_2SO_4 zur Hydrolyse des Lipoidphosphors verwendet.

Ausführung: 1 ccm Oxalatblut bzw. Serum oder Plasma wird auf fettfreie Filterpapierstreifen (1¼ × 7 inch. = rund 3 × 14 cm) aufgesaugt und im elektrischen Ofen bei 50° getrocknet. Die trockenen Streifen werden zusammengerollt und in Folinsche Zuckerröhrchen, die mit zirka 4 ccm Chloroform beschickt sind, übergeführt. Extraktion am Wasserbad von 70° durch 3 Stunden. Als Kühler dient ein eingehängtes Reagenzglas, das von kaltem Wasser durchströmt wird. Es lassen sich so beliebig viele Bestimmungen hintereinander schalten. Nach beendigter Extraktion Ueberspülen des Chloroforms in 50 ccm Meßkölbchen, Zusatz von 20 ccm Wasser, 3 ccm Molybdatreagens (25 g Ammonmolybdat in 300 ccm H_2O, dazu 75 ccm konz. H_2SO_4, auf 500 ccm auffüllen) und 3 ccm Hydrochinoreagens (5 g Hydrochinon, 25 g Kaliumbisulfit in 500 ccm H_2O). Die Kölbchen werden nun — gleichzeitig mit dem Standard (219,3 mg KH_2PO_4 im l, 1 ccm = 0,05 mg P) — für 30 Minuten in ein siedendes Wasserbad gebracht. Hydrolyse und Farbentwicklung erfolgen gleichzeitig, das Abdampfen des Chloroforms entfällt so. Nach Abkühlen wird kolorimetriert. Die Resultate stimmen mit den nach der bisher üblichen Methodik (Verjagen d $CHCl_3$, Veraschen mit $HNO_3 - H_2SO_4$) praktisch überein. Füllt man den Chloroformextrakt auf 5 ccm auf, so läßt sich in aliquoten Teilen Cholesterin und Lipoidphosphor bestimmen. H. K. Barrenscheen.

F. Wind u. K. v. Oettingen. Milchsäurebestimmung in den Uterus- und Nabelgefäßen. (Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem.) Biochem. Ztschr. 197, 170, 1928.

Die Arbeit bringt die am Warburgschen Institut geübte Milchsäurebestimmung, mit der der Milchsäurestoffwechsel der Gewebe im lebenden Tier gemessen wird. Im wesentlichen handelt es sich um eine Modifikation der Clausenschen Methodik. Blutentnahme (1 ccm) aus dem ungestauten Gefäß mittels Tuberkulinspritze, sofort übertragen in 50 ccm Meßkölbchen in 20 ccm H_2O (ev. Gewicht durch Wägung bestimmen). Enteiweißen nach Folin-Wu. Zusatz von 3 ccm 10% Natriumwolframat und — tropfenweise, unter Schütteln — 2 ccm n-Schwefelsäure, auffüllen zur Marke, mischen. Nach halbstündigem Stehen zentrifugieren, in trockenen Meßzylinder filtrieren, Volumen ablesen. Entfernung der Kohlehydrate nach van Slyke-Clausen: Zum Filtrat 5 ccm 10% Kupfersulfat, 5 ccm Kalkwasser (25 g Kalziumoxyd e marmore in 500 W. suspendiert.) Reaktion prüfen! (Lackmus alkalisch!). 30 Minuten stehenlassen, zentrifugieren, filtrieren in trockenen Meßzylinder, Volumen ablesen. Filtrat in langhalsigen Destillationskolben überspülen, mit 5 ccm n-Schwefelsäure und etwas Talkum versetzen, destillieren. Sobald die Flüssigkeit kocht, läßt man aus Kapillartrichter n/1000 $KMnO_4$ zutropfen, bis die Permanganatfarbe bestehen bleibt (schnell destillieren, langsam zutropfen lassen!). Die Vorlage, in welche das Destillationsrohr eintaucht, wird mit 20 ccm einer M/10-$NaHSO_3$-Lösung und 30 ccm W. beschickt. Nach Beendigung der Destillation Zusatz einiger Tropfen Stärkelösung (1 g gewöhnliche Stärke in heißem Wasser lösen,

mit 30 g Kochsalz versetzen, auf 100 ccm auffüllen), Zerstörung des überschüssigen Bisulfits durch Jodlösung (sukzessive n, n/10, n/100) bis zur eben auftretenden Blaufärbung. Zerlegung der Aldehyd-Bisulfitverbindung durch 30 ccm 6,3% $NaHCO_3$-Lösung, titrieren mit n/100 Jodlösung bis zur neuerlichen Blaufärbung. 1 ccm n/100 Jodlösung = 0,45 mg Milchsäure.

H. K. Barrenscheen.

San Yin Wong. Colorimetric determination of iron and hemoglobin in blood. II. (Kolorimetrische Eisen- und Haemoglobinbestimmung im Blut.) Departement of Biochemistry, University of Hongkong. II. of biol. Chem. Vol. 77, S. 409, 1928.

Prinzip: Durch konzentrierte Schwefelsäure und Kaliumpersulfat wird das Fe des Haemoglobins abgespalten. Nach Fällung der Eiweißkörper durch Wolframsäure wird das Fe kolorimetrisch als Rhodanid bestimmt.

Erforderliche Reagentien (sämtliche Reagentien, mit Ausnahme der Standardlösung, müssen in Blindversuchen auf Eisenfreiheit geprüft werden).

1. Konzentrierte Schwefelsäure. 2. 10% Lösung von Natriumwolframat. 3. Gesättigte Kaliumpersulfatlösung (7 g reines Kaliumpersulfat werden in einer Glasstopfenflasche mit 100 ccm dest. Wasser versetzt. Der ungelöste Bodenkörper ergänzt eventuell durch Zersetzung entstandene Verluste). 4. Eine zirka 3n-Kaliumrhodanidlösung (146 g KCNS ad 500 Wasser, Zusatz von 20 ccm reinen Azetons zur Haltbarmachung). 5. Standard-Eisenlösung. 0,7 g Ferroammoniumsulfat (genau gewogen) werden in 50 ccm W. gelöst, mit 20 ccm 10% eisenfreier H_2SO_4 versetzt und leicht erwärmt. Zusatz von 0,1 n $KMnO_4$ bis zur kompletten Oxydation des Ferroeisens, dann auffüllen auf 1 Liter. 1 ccm = 0,1 mg Fe.

Ausführung der Bestimmung: 0,5 ccm Blut werden exakt in ein 50 ccm Meßkölbchen abgemessen, mit 2 ccm konz. H_2SO_4 versetzt und 1 bis 2 Minuten durch Schwenken gemischt. Zusatz von 2 ccm gesättigter Persulfatlösung, schütteln, auf zirka 25 ccm verdünnen und mit 2 ccm Wolframatlösung versetzen. Mischen, auf Zimmertemperatur abkühlen, zur Marke auffüllen, gründlich mischen, filtrieren. 20 ccm Filtrat = 0,2 ccm Blut in graduiertes Reagenzglas (Marke bei 20 und 25 ccm) pipettieren, in ein zweites Reagenzglas 1 ccm Standardlösung und 0,8 ccm konz. H_2SO_4, mit W. auf 20 ccm auffüllen. Nach Abkühlen in jedes Gläschen 1 ccm gesättigte Persulfatlösung und 4 ccm Kaliumrhodanid. Mischen. Vergleich im Dubosq, Standard bei 20 cmm. Berechnung: mg% $Fe = \frac{20}{R} \cdot 50$ (R = abgelesene Höhe der zu untersuchenden Lösung). % Haemoglobin nach der Formel $\frac{20 \times 50}{R \times 3{,}35}$

H. K. Barrenscheen.

G. Embden und **H. Jost.** Ueber die Spaltung des Lactacidogens bei der Muskelkontraktion. (Institut für veget. Physiologie, Universität Frankfurt.) H. S. Bd. 179, S. 24, 1928.

Die Arbeit bringt eine neue, von Jost ausgearbeitete Mikromethode zur Bestimmung des Lactacidogens. Prinzip: Lactacidogen wird aus verdünnter wässeriger Lösung, die Magnesiumionen im Ueberschuß enthält, durch ammoniakalischen Alkohol quantitativ gefällt, während Zucker und eventuell andere reduzierende Substanzen in Lösung bleiben, beziehungsweise durch Umfällen entfernt werden können. Die Bestimmung des Lactacidogens erfolgt durch Reduktion einer Ferrizyanidlösung nach der Methode von Hagedorn-Jensen. Der spezifische Reduktionswert des Lactacidogens wurde — an reinen Lösungen bestimmt — um fast genau ein Drittel niedriger gefunden, als es der in ihm enthaltenen Hexose (als Glukose) entspricht. Durch Multiplikation des nach Hagedorn-Jensen gefundenen Wertes mit 1,5 läßt sich demnach die im Lactacidogen enthaltene Hexose einwandfrei bestimmen.

Ausführung der Bestimmung: 1 bis 2 g in flüssiger Luft zerkleinerte Muskulatur wird in ein 50 ccm Erlenmeyerkölbchen, das 8 bis 10 ccm einer 5%igen Lösung von Trichloressigsäure in 1 % HCl enthält und das vorher exakt analytisch gewogen wurde, eingetragen und das Gewicht durch neuerliche Wägung festgestellt. Nach mindestens 12stündigem Stehen wird zentrifugiert, filtriert und mit reinstem Magnesiumoxyd bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt. Ueberschüssiges MgO und das ausgefallene Phosphat in mit Gummistopfen verschlossenen Zentrifugenröhrchen abzentrifugieren. Vom klaren Zentrifugat 2 cm in geeignete Zentrifugenröhrchen pipettieren, mit 5 ccm abs. Alkohol und 5 ccm ammoniakalischen Alkohol (1000 ccm abs. Alkohol, 20 ccm 25% Ammoniak, 2 g Ammonchlorid) versetzen, gründlich mischen. Den sofort entstehenden Niederschlag läßt man 2 Stunden im Eisschrank absitzen, zentrifugiert, rührt nach Abgießen den Niederschlag in 2 ccm Wasser auf und fällt neuerlich in der gleichen Weise. Abermals 2 Stunden im Eisschrank absitzen lassen, zentrifugieren, abgießen, Rand der Zentrifugengläser abspritzen, mit Filterpapier reinigen. Der Niederschlag in den Röhrchen wird im Vakuum über H_2SO_4 und festem NaOH 4 bis 5 Stunden getrocknet, dann in 2 ccm n/10 HCl gelöst, mit 2 ccm Wasser verdünnt und in 90 ccm Erlenmeyerkölbchen übergespült. Nachwaschen mit zunächst 4 ccm n/20-Na_2CO_3, dann 4 ccm Wasser. Weitere Bestimmung genau nach Hagedorn-Jensen. — Bez. der bedeutungsvollen physiologischen Ergebnisse s. d. Originalarbeit.

H. K. Barrenscheen.

F. Lehnartz. Zur Methodik der Bestimmung kleinster Milchsäuremengen. (Inst. f. veget. Physiologie, Universität Frankfurt.) H. S. Bd. 179, S. 1, 1928.

Abänderungen der Embden-Hirsch-Kauffmannschen Methodik, welche es ermöglicht, Milchsäuremengen bis 20 Mikrogramm mit einer maximalen Fehlergrenze von 2,7% zu bestimmen. Durch die Einführung der Shafferschen Modifikation (Zusatz von Manganosalz zu der zu oxydierenden Milchsäurelösung, s. Il. of Biol. Chem. 73, 335, 1927) wird die Ausbeute an Milchsäure auf nahezu 100% erhöht.

Die Ausführung gestaltet sich im einzelnen folgendermaßen: Enteiweißung (für Muskel, Muskelpreßsaft, Blut) nach Schenck mit Sublimat-Salzsäure.

Verwendung von Trichloressigsäure zur Enteiweißung ist nicht zu empfehlen, da Verluste an Milchsäure — zwischen 2,3 bis 15,9% auftreten. Bei Milchsäuremengen unter 0,2 mg wird das Volumen der Schenckfällung möglichst groß gewählt. Als Beispiel wird die Verarbeitung eines 0,1 g schweren Froschmuskels gegeben. Das durch Verreiben in flüssiger Luft erhaltene Muskelpulver wird in analytisch gewogene Zentrifugengläser, die 5 ccm 4 % HCl enthalten, eingebracht und nach neuerlicher analytischer Wägung mit 2 bis 3 ccm 5%iger Sublimatlösung versetzt. Nach mehrstündigem Stehen und wiederholtem Umschütteln wird mit 17 ccm Wasser versetzt und über Nacht im Eisschrank gehalten. Zentrifugieren, mit H_2S entquecksilbern, Sulfid auf kleiner Nutsche absaugen, H_2S im Filtrat durch Luft vertreiben. Vom Filtrat wird ein möglichst großer Anteil — zirka 23 ccm — in ein 35 ccm Meßkölbchen übergeführt, mit 2 ccm 10% $CuSO_4$ versetzt und mit 33% NaOH neutralisiert. Fällung der Kohlehydrate durch Zusatz von 5 ccm nicht zu dicker Kalkmilch, Auffüllen zur Marke, überführen in Zentrifugengläser, ½ Stunde stehenlassen unter öfterem Umschütteln, 10 Minuten zentrifugieren. Abgießen, eventuell durch kleines Schwarzbandfilter filtrieren. Ein möglichst großer Filtratanteil — zirka 32 bis 33 ccm — wird in einen kurzhalsigen Kjeldahlkolben übergeführt, mit 25% H_2SO_4 neutralisiert, auf einen Gehalt von 0,5% H_2SO_4 gebracht und nunmehr mit 2 ccm 5% Manganosulfat und etwas Talkum versetzt. Für größere Milchsäuremengen kann das Volumen der Schenckfällung entsprechend kleiner gewählt werden, es sollen im Höchstfalle jedoch nur Mengen von 0,5 mg Milchsäure zur Bestimmung gelangen. Danach hat sich auch die in Verwendung genommene Menge Schenckfiltrat, beziehungsweise Kupfer-Kalkfiltrat zu richten. Das Volumen der Destillationsflüssigkeit wird in diesem Fall auf 20 ccm gebracht. Zur Destillation empfiehlt sich eine Glasschliffverbindung, da Gummistopfen bei so kleinen Milchsäuremengen zu Fehlresultaten Anlaß geben können. Ueber die nähere Form des Apparates siehe das Original und die Arbeit von Embden (H. S. Bd. 143, S. 301, 1925). Die eisgekühlte Vorlage wird bei Milchsäuremengen von 0,5 mg mit 10 ccm n/50 und bei Mengen unter 0,2 mg mit 10 ccm n/100 Kaliumbisulfitlösung beschickt. Man erhitzt zunächst auf der Asbestplatte zum Sieden und läßt, sobald der wagrechte Teil des Destillationsrohres bereits stark erwärmt ist, aus dem Tropftrichter n/500-$KMnO_4$ zutropfen, 40 bis 50 Tropfen in der Minute, bei sehr kleinen Milchsäuremengen 20 bis 30 Tropfen in der Minute. Das Zutropfen wird solange fortgesetzt, bis der Kolbeninhalt stark braun gefärbt ist (bei Milchsäuremengen von 0,5 mg zirka 10 Minuten). Darauf Vorlage senken, einige Minuten abtropfen lassen, Destillationsrohr abspritzen. Titration nach Clausen: Zerstörung des überschüssigen Bisulfits bis nahe zum Umschlagpunkt mit n/25- bis n/50-Jodlösung, dann bis zur eben erkennbaren Blaufärbung mit n/200- (bei Milchsäuremengen von 0,5 mg) beziehungsweise bei kleineren Milchsäuremengen mit n/400- bis n/500-Jodlösung Zur Umsetzung der Aldehyd-Bisulfitverbindung werden dann einige Gramm $NaHCO_3$ oder (besser) Na_2HPO_4 zugesetzt und mit n/200- beziehungsweise n/500-Jodlösung bis zur erneuten Blaufärbung titriert. (Die Blaufärbung darf auf neuerlichen Zusatz von Bikarbonat beziehungsweise Phosphat für einige Minuten nicht verschwinden.)

H. K. Barrenscheen.

Bücherschau.

Adolf Mayrhofer. Mikrochemie der Arzneimittel und Gifte. II. Teil: Die Arzneimittel organischer Natur. Mit 24 Abbildungen im Text und 15 Tafeln. (Urban u. Schwarzenberg, Berlin und Wien, 1928). Mk. 16.—.

Dem im Jahre 1923 erschienenen ersten Teil[1] seines Werkes, der die offizinellen anorganischen und organischen Säuren und ihre Salze behandelt, hat Mayrhofer jetzt den zweiten Teil folgen lassen, der sich mit der Mikrochemie der organischen Arzneimittel befaßt. Das Werk, dem R. Wasicky ein Vorwort beigegeben hat, umfaßt einen allgemeinen und einen speziellen Teil. In ersterem bespricht der Verfasser außer den sehr lehrreich vorgetragenen Grundlagen (Erfassungsgrenze, Empfindlichkeitsgrenze, Grenzen der mikrochemischen Reaktionen in Gewebsschnitten) besonders die Mikrosublimation und die Bestimmung der Sublimationstemperatur, die mineralogischen Verfahren, in denen ihm besonders große eigene Erfahrungen in der Bestimmung des Brechungsvermögens zur Verfügung stehen und die qualitativen Mikromethoden zur Untersuchung der Drogen. Besonders hingewiesen sei auf die Tabellen S. 46 bis 56, in denen gezeigt wird, wie die Identifizierung einer organischen Substanz vorgenommen werden kann, wenn die Untersuchung in folgender Reihenfolge vorgenommen wird: 1. Bestimmung des Schmelzpunktes sowie der Sublimationstemperatur; 2. Untersuchung der Sublimate auf ihre Beschaffenheit unter dem Mikroskope; 3. Bestimmung der Brechungsindizes; 4. mikrochemische Spezialreaktionen. Im speziellen Teil werden eine große Anzahl organischer Arzneimittel behandelt. Das Werk stellt auch für den, der sich nicht mit jeder Angabe einverstanden erklären kann, eine wertvolle Bereicherung der Literatur dar und wird jedem, der sich mit dem Nachweis organischer Arzneimittel befaßt, eine dankenswerte Unterstützung sein. Für eine zweite Auflage sei der Wunsch ausgesprochen, daß der Nachweis der Verunreinigungen eingehender behandelt werde. Möge das Werk Mayrhofers dazu beitragen, daß nun endlich auch einmal die Arzneibücher für den Nachweis und die Prüfung der Arzneimittel mikrochemische Verfahren aufnehmen.

L. Rosenthaler (Bern).

Chemiker-Kalender 1929. Ein Hilfsbuch für Chemiker, Physiker, Mineralogen, Industrielle, Pharmazenten, Hüttenmänner usw. Herausgegeben von J. Koppel. Verlag Julius Springer, Berlin. Gebunden 20 Mark.

Dieses weit über Fachkreise hinaus bekannte, in Kalenderform erscheinende Werk, feiert im heurigen Jahre seinen 50jährigen Bestand, wohl der beste Beweis dafür, daß es die Herausgeber immer als ihre vornehmste Aufgabe angesehen haben, durch Anpassung an die Fortschritte der Wissenschaft das Interesse der Fachwelt an dem Kalender wach zu halten. Auch im heurigen Jahre, wurden wie bisher üblich, alle Abschnitte verbessert und ergänzt, sowie einige Abschnitte neu eingefügt, von denen speziell eine Tafel mit den wichtigsten Ringsystemen organischer Stoffe und ihre Bezifferung, Spezifische Reaktionen von F. Feigl, Unter-

[1] Besprechung des I. Teiles siehe Mikrochemie I, 62 (R. Strebinger).

suchungen in der Papier-, Zellstoff- und Kunstseidenindustrie von H. Rein, sowie ein Abschnitt über Gesteine von Tom. Barth erwähnt sei. Für die Leser der „Mikrochemie" ist insbesonders der Beitrag Spezifische Reaktionen von F. Feigl von großer Bedeutung, da dieses Gebiet hier erstmalig zusammenfassend behandelt wird. Nur erscheint dem Referenten dieser Abschnitt zu sehr zusammengedrängt, da durch die vielen Abkürzungen die Uebersichtlichkeit sehr leidet und teilweise auch wichtige Reaktionen, wie zum Beispiel der Nachweis des Bariums und Strontiums mit Hilfe der Rhodizonsäure nicht aufgenommen wurde. Wenn man bedenkt, welchen breiten Raum die sogenannten Vorproben (Lötrohr, Schmelzen, Perlen) einnehmen — bei voller Anerkennung ihres Wertes — könnte ganz gut im nächsten Jahre durch ihre zweckmäßige Kürzung, ohne Vermehrung des Umfanges des analytischen Teiles, den modernen Spezifischen Reaktionen, welche ja zum Großteile als Tüpfelproben (also mit den einfachsten Hilfsmitteln) durchführbar sind, ein breiterer Raum gewährt werden. Die „Mikrochemische Analyse" ist wieder von W. Geilmann mit Ergänzung der neuen Literatur in präziser Form, unter Ausnützung des zur Verfügung stehenden Raumes, mit viel Geschick bearbeitet. Der stete Ausbau der „Technisch-Chemischen Untersuchungen" ist insbesonders für den Praktiker von großem Werte, da vielfach dadurch die Anschaffung kostspieliger Spezialwerke entbehrlich wird. Die Gliederung in drei Teilen ist beibehalten, wovon der zweite und dritte Teil in einem Bande gebunden, das eigentliche wissenschaftliche Werk bildet und der erste Teil das Kalendarium und Hilfstabellen fürs Laboratorium enthält. Dem Verlag gebührt für die mustergültige Ausstattung volle Anerkennung. Strebinger.

Die bisher erschienenen Jahrgänge I—VI (1923—1928) der Zeitschrift „Mikrochemie" liegen vollständig vor (teilweise im Neudruck) und können zum Preise von je Rm 21.— bezogen werden. Ausnahmsweise werden auch Einzelhefte abgegeben. Preise auf Anfrage.

Tafel I.

Fig. 1. Kobalt.

Fig. 2. Kupfer.

Fig. 3. Kupfer.

„Mikrochemie" 1929. A. Martini, pag. 30.

Tafel II.

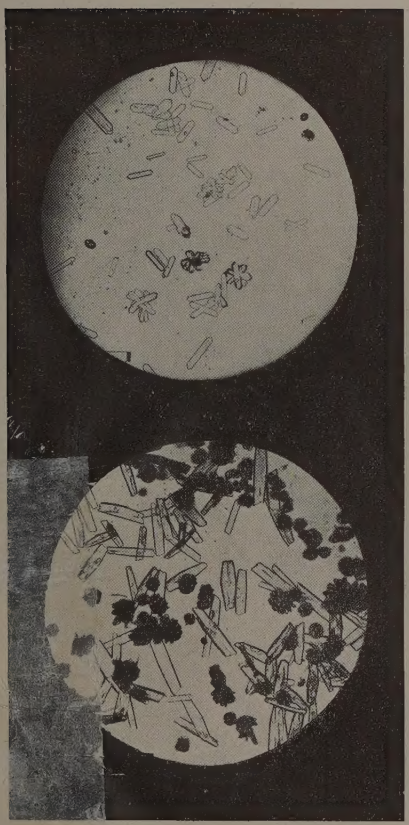


Fig. 5. Nickel.

Fig. 4. Kobalt.

Tafel III.

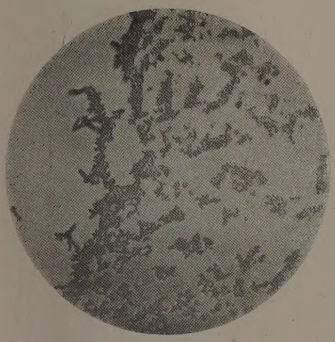


Abb. 1.

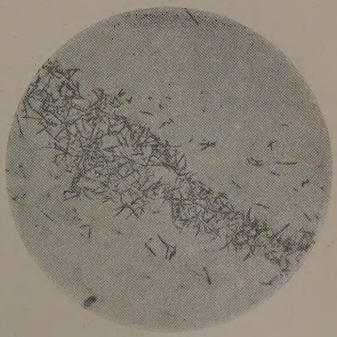


Abb. 2.

Abb. 3.

Abb. 4.

Abb. 5.

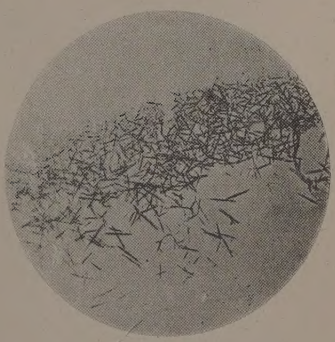


Abb. 6.

„Mikrochemie" 1929. W. P. Malitzky u. M. T. Koslowsky, pag. 94.